

Fibric acid를 이용한 항고지혈증 겔 연고의 경피 흡수 특성

정덕채[†] · 황성규* · 오세영

[†]인천대학교 자연과학대학 화학과

*서울과학기술대학교 정밀화학과

(2010년 9월 10일 접수 ; 2010년 12월 15일 채택)

Percutaneous absorption Characteristics of Anti hyperlipidemia Gel Ointment using Fibric acid

Duck Chae-Jung[†] · Sung-Kwy Hwang* · Se-Young Oh

[†]Department of Chemistry, University of Incheon, Incheon, 402-749, Korea

*Department of Fine Chemistry, Seoul National University of Science and Technology, Seoul,
139-743, Korea

(Received September 10, 2010 ; Accepted December 15, 2010)

Abstract : New biological treatments were being developed at a record pace, but their potential could be compromised by a significant obstacle: the delivery of these drugs into a body. Pharmaceutical delivery is now nearly as important as product. New systems are being developed, and Drug Delivery Markets Series cover these new systems. Transdermal Delivery System(TDS) is often used as a method of drug dosage into the epidermic skin. An approach used to delivery drugs through the skin for therapeutic use as an alternative to oral, intravascular, subcutaneous and transmucosal routes. Various transdermal drug delivery technologies are described including the use of suitable formulations, carriers and penetration enhancers. The most commonly used transdermal system is the skin patch using various types of technologies. Compared with other methods of dosage, it is possible to use for a long term. It is also possible to stop the drug dosage are stopped if the drug dosage lead to side effect. Polysaccharides, such as karaya gum and glucomannan, were selected as base materials of TDS. Also, these polymers were characterized in terms of enhancers, drug contents. Among these polysaccharide, the permeation rate of karaya gum matrix was fastest in fibric acid(ciprofibrate) such as lipophilic drug *in vitro*. We used glycerin, PEG400 and PEG800 as enhancers. Since dermis has more water content(hydration) than the stratum corneum, skin permeation rate at steady state was highly influenced when PEG400 was more effective for lipophilic drug. Proper selection of the polymeric materials which resemble and enhance properties of the delivering drug was found to be important in controlling the skin permeation rate. Especially, this result suggests a possible use of polysaccharide gel ointment matrix as a transdermal delivery system of anti-hyperlipoproteinemic agent.

Keywords : percutaneous absorption, ciprofibrate, *in vitro*, anti-hyperlipidemia, enhancer,

[†]주저자 (E-mail : dcjung@incheon.ac.kr)

1. 서론

약물은 투여가 용이하고 약리효과가 최적으로 발현될 수 있는 제형으로 개발된 후 여러 경로로 생체에 투여된다. 투여된 약물은 제형으로부터 방출된 후 흡수되고 혈류를 따라 각 장기로 분포된 다음, 대사 및 요중 배설로 소실된다. 약물의 약리효과는 생체 내 작용부위에 도달한 약물에 의해 약효가 발휘되고 다른 부위로 가는 약물은 주로 부작용의 원인이 된다. 약물방출 조절 시스템(Drug Delivery System, DDS)이란 종전의약품 투여의 단점을 개선하여 최상의 약효를 획득하는 것을 말한다. DDS 응용법 중에서 가장 각광 받는 분야가 피부를 통해 약물을 투여하는 경피 흡수방식(Transdermal Delivery System, TDS)[1, 2]으로 약물이 일정한 속도로 피부를 투과하여 약효가 지속적으로 발현되도록 약물의 방출속도와 피부투과 속도를 조절하는 일종의 약물전달 시스템이며 먹는 약으로 인해 생길 수 있는 위장장애, 간장애 부작용이 거의 없으며 약물이 일정한 속도로 체내에 전달되므로 약효를 오랫동안 유지시킬 수 있는 장점이 있고 간에서의 초회통과 효과(first-pass effect)를 피할 수 있으며 장기간 투여가 가능하고 부작용이 나타나면 즉시 투여를 중지할 수 있는 장점 때문에 최근에 전신 치료의 목적으로 피부에 약물을 적용하고 있다[3-8]. 경피흡수제는 간에서의 초회통과효과를 거치지 않으므로 생체이용률(bioavailability)을 높일 수 있으며, 장시간동안 연속투여가 가능하다. 또한 제제측면에서 흡수속도를 조절할 수 있다. TDS의 이러한 장점 때문에 많은 연구가 이루어지고 있으나 다량의 투여가 필요한 약물, 제제가 피부에 자극이 있는 경우, 약물이 피부 내에서 대사 되는 경우 및 약물의 크기가 커서 분자 확산이 불가능한 경우에는 경피흡수제로서 이용이 불가능하다는 단점도 있다. TDS를 이용한 개발 대상 약물로는 고혈압치료제, 항히스타민제, 소염제, 진통제, 호르몬제 및 피임약 등이 속하는데 이러한 부분과 관련하여 연구가 각 분야에서 활발히 진행되고 있으며 특히 투과촉진제에 대한 연구가 많이 보고되고 있다[9-15]. 피부의 가장 큰 역할은 이물질의 침입이나 체내로부터 수분 증발을 막는 장벽으로서 작용하는 것이므로 일반 생체막에 비하여 투과성이 낮고 유효혈중농도

를 유지할 수 있을 만큼 충분한 속도와 양의 흡수가 이루어지는 약물은 그리 많지 않다. 그러므로 피부투과의 가장 큰 장벽인 각질층에 영향을 주어 약물의 투과도를 증진시키고 지연시간(lag time)을 단축시킬 목적으로 투과촉진제를 사용하며 일반적으로 sulfoxide, azone, urea 및 glycol 유도체 등이 사용되고 있다[16-20]. 경피흡수제는 피부에 직접 적용시키기 때문에 피부에 적용되었을 때 피부자극 및 홍반 유무 등의 부작용을 일으키지 않는 재료를 선택하는 것이 중요하다.

본 연구에서는 DDS를 응용한 TDS를 제조하고자 약물 방출조절 matrix로서 천연다당류인 karaya gum과 glucomannan을 이용하고 항고지혈증제인 fibric acid(ciprofibrate)와 혼합하여 matrix의 종류, 약물의 함량 및 투과촉진제의 종류를 변화시키면서 경피흡수제를 제조하고 실험동물인 랫드(rat)를 사용하여 *in vitro*에서의 경피 흡수 실험을 진행하여 항고지혈증제의 오심, 구토 및 간 기능 저하 등의 부작용[9] 감소와 천연다당류의 겔 형태의 연고 matrix로서의 가능성 및 투과촉진제의 영향 등을 검토하였다.

2. 실험

2.1. 실험 재료 및 분석 기기

경피 흡수 실험에 사용된 천연다당류 matrix로서 karaya gum과 glucomannan은 Sigma사의 시약을 사용하였으며 항고지혈증제로서 fibric acid(Ciprofibrate)는 Sigma사제 특급시약을 사용하였으며 투과촉진제로 사용된 glycerin, PEG 400, PEG 800(polyethylene glycol, n: 400, 800)은 Aldrich사제 특급시약을 사용하였다. 경피흡수제를 제조하는데 사용한 용매로서는 Millipore사의 Milli-Q water filter system을 사용하여 처리한 초순수를 자외선으로 24시간 멸균 처리하여 사용하였다. *In vitro* 실험에서의 대체 혈장용액은 Sigma사의 phosphate buffered saline(이하 PBS)을 이용하여 pH 7.4로 제조하였으며 기타 실험에 사용한 에탄올, 초산, 에테르 등의 용매는 국산용매를 재증류하여 사용하였다. 실험동물은 (주)중앙실험동물에서 4주령 된 체중 100 ~ 150 g의 특정 병원체 부재(Specific Pathogen Free, SPF) 숫컷

SD(Sprague - Dawley)계 랫드를 분양 받아서 일주일간 적응 순화시킨 후 건강한 동물을 선택하여 *In vitro*에서의 실험을 위해 막으로 사용할 랫드의 피부를 적출하였다. 랫드는 에테르를 사용하여 마취하였고, 털을 제모하고 에탄올로 소독한 후 멸균된 수술용 칼로 표피를 가로, 세로 각각 5.0cm의 크기로 등쪽 피부를 적출하여 피하지방과 혈관 등을 상하지 않게 제거하였으며 이때 피하지방과 혈관 등을 상하지 않게 주의하였다[9]. 적출한 피부를 실험장치 중앙에 고정시킨 후 실험을 진행하였다. 실험을 위해 아크릴로 제작된 Fig. 1의 Franz 수평막셀을 사용하여 투과실험을 진행하였다.



Fig. 1. Schematic Diagram of Transdermal Absorption Apparatus of Drug Release *In Vitro*.

실험에 이용한 고지혈증제인 fibric acid(ciprofibrate)는 제약 상품명 lipranol로 경구용 약제로 판매되고 있으며, 화학적으로 phenoxybutyric acid의 유도체로 분류할 수 있고 Fig. 2와 같은 구조 활성 경향을 가진다. 즉 isobutyric acid 그룹은 활성에 필수적이고 gemfibrozil나 fenofibrate같이 ester를 포함하는 화합물은 전구약물(pro-drug)이며 활성형이 되기 위해 가수분해를 필요로 한다. 또한 isopropyl ring 을 포함하는 chloro 그룹이나 chlorine이 있는 방향환의 para 위치 치환기는, 더 긴 반감기를 갖게 한다. 이 계통의 화합물들은 혈중 중성지방(triglyceride)은 낮추고 혈중 HDL 은 높이는 데 고지혈증 억제 효능을 나타낸다. Fibric acid의 보고된 부작용[21,22]으로는 오심, 설사, 체중 증가를 경험하는 환자가 있으며 탈모, 무기력 및 성욕 감퇴 등도 때때로 나

타난다고 보고된 바 있다. 더 심한 부작용으로는 독감양(flu-like) 증후군이며 심한 근육 경련, 통증, 경직 및 무력 등이 동반된다. 이 증후군은 약을 먹을 때마다 재발하며 혈장 내 creatine phosphokinase와 glutamic-oxaloacetic transaminase의 증가를 나타낸다.

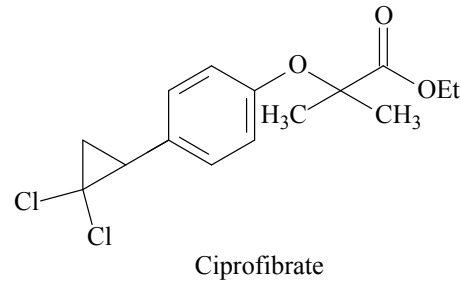


Fig. 2. The structure of fibric acid(ciprofibrate) using experiments.

2.2. 실험 방법

2.2.1. 경피흡수제의 제조

경피흡수제의 제조방법으로 일정 양의 용매에 천연다당류, 약물인 ciprofibrate와 투과촉진제의 양을 일정하게 취하여 각각 용해시켰다. 수용액상에서 점성을 지니므로 교반기를 사용하여 일정시간 동안 균일하게 분산 용해되도록 하였다. 이때 기포가 발생하면 일시적으로 초음파반응을 실시하여 기포생성을 방지하였다. 이와 같이 제조한 경피흡수제는 밀봉하여 사용할 때까지 PE병에 보관하였으며 제조한 경피흡수제들의 조건을 Table 1에 나타내었다.

2.2.2. *In vitro*에서의 경피흡수

각각 동일 조건으로 제조된 경피흡수제를 *In vitro*에서의 50ml의 부피를 가지며 적출한 랫드의 피부가 고정된 투과 셀 상층에 제조한 겔 형태의 고지혈증제 연고 matrix를 넣고 110rpm을 유지하여 37±0.5℃로 유지된 항온조에서 실험하였으며 교반기를 사용하여 막 주위의 농도 분극이나 boundary resistance를 제거하였다[11]. 투과가 진행되는 동안 투과정도는 분광광도법으로 측정하였으며 sink condition을 유지하기 위하여 곧바로 시료 3.0ml를 채취한 후 바로 동량의 PBS를 넣어주었다. 채취된 시료는 millipore filter(pore size : 0.2µm)로 그대로 여

Table 1. Composition of Transdermal Forming(unit : mg)

	A	B	C	D	E	F	G	H	I
karaya gum	255	-	225	-	225	225	225	225	225
glucmannan	-	255	-	225					
fibric acid	45	45	75	75	75	75	75	75	75
Glycerin	-	-	-	-	40	-	80	-	-
PEG 400	-	-	-	-	-	40	-	80	-
PEG 800	-	-	-	-	-	-	-	-	80
Water	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000

과한 후 fibric acid의 최대흡수과장인 298nm에서 측정하였으며 각 실험은 5회 실시하여 그 평균치를 사용하여 계산하였다.

2.2.3. 경피투과 이론

경피 약물의 흡수는 약물이 matrix와 생체내부 사이의 농도 차이에 의한 현상이다. 각질층을 투과하는 전체 확산과정은 기재 중에서 확산, 각질층으로 분배와 확산, 각질층 이하의 층으로 분배, 표피와 진피 중에서의 확산 그리고 진피 중에서 혈액으로의 이행되는 수동확산으로 나눌 수 있다. 확산현상은 약물의 농도 구배와 이동속도의 관계를 나타내는 Fick의 제1식 [(1)]으로 표현된다[12, 23].

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

A : 투과면적, cm^2 ,

C : 약물의 농도, g/ml ,

D : 확산계수, cm^2/hr ,

J : 투과속도, cm/hr ,

t : 시간, hr ,

x : 투과거리 (막의 두께) h , cm

약물의 피부투과는 대부분 정상상태에서의 투과속도로 정해진다. 피부가 barrier막이고, 식(1)에서 $(\partial C/\partial X)$ 가 X 에 관계없이 일정하고 피부 표면의 약물농도가 0이라고 가정하면, 피부라는 막에서의 약물의 농도는 실제 측정이 불가능하므로 공여체와 수용체의 농도와 분배계수의 곱으로부터 구한다. 약물을 현탁액 형태로 적용하여 약물이 분배계수 K 에 따라 피부에 분배되고 수용체에서 항상 sink condition이 유지되고 있다고 하면 수용체 층으로의 누적 약물투과량 Q 는 다음의 (2)식으로 나타내진다.

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

이 식으로부터 비선형 최소자승법을 이용하여 누적약물 투과량-시간곡선을 해석하여 K 와 D 를 구할 수 있다[13]. 정상상태의 기울기가 투과속도 J 이며 이직선을 시간축에 외삽했을때의 교점이 lag-time LT 에 해당하므로 J 와 LT 는 그래프로부터 구할 수도 있다. 식(2)에서 $t \rightarrow \infty$ (정상상태)가 되면

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

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

$$J = AKC_v D/L = A(K_p) C_v \quad (4)$$

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

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

따라서 피부 barrier의 두께 L 을 안다면 lag-time으로부터 D 를 구하고 D 와 K_p 로부터 K 를 구할 수 있다[14,15]. 이러한 투과속도 계산법을 이용하여 기재와 약물의 조건변화에 따른 랫드의 피부에서의 경피투과 속도를 연구하였다.

3. 결과 및 고찰

천연다당류 고분자인 karaya gum과 glucmannan을 matrix로 사용하여 항고지혈증제인 fibric acid를 첨가하고 이들을 랫드 피부에서의 약물의 함량, 투과촉진제 등의 변화에 따른 투과정도를 관찰하였다. 즉, 지용성 약물

인 fibric acid의 함량을 15wt%, 25wt%로 경피 흡수제를 제조하여 실험을 하였으며, 투과촉진제로 글리세린, PEG400, PEG800을 첨가하여 투과촉진제의 영향을 실험하였다.

먼저, Fig. 3은 fibric acid의 함량에 따른 투과속도의 변화인데 *in vitro*에서 진행한 투과 실험에서의 전체적인 투과 양상은 4시간 전후에서 정상상태(lag time)에 이르고 있으며 약물의 함량이 15wt%였을 때 karaya gum은 1.232 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ 이며 glucomannan은 1.211 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ 로 계산되었다. 약물의 함량을 25wt%로 하였을 때는 karaya gum은 1.484 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ 이며 glucomannan은 1.105 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ 로 계산되었다. Lag time에 차이를 나타내는 이유로 약물함량과 matrix의 차이에 따른 피부접촉면 즉 각질에서의 hydration rate 차이로 생각된다. 결과에서 약물의 함량이 많은 경우가 상대적으로 빠른 투과속도를 나타냈다. 이는 일정 시간의 lag time에 도달 후 지용성 물질을 잘 투과시키는 생체 피부가 지용성 약물인 fibric acid를 빠르게 투과시키기 때문이라 생각된다.

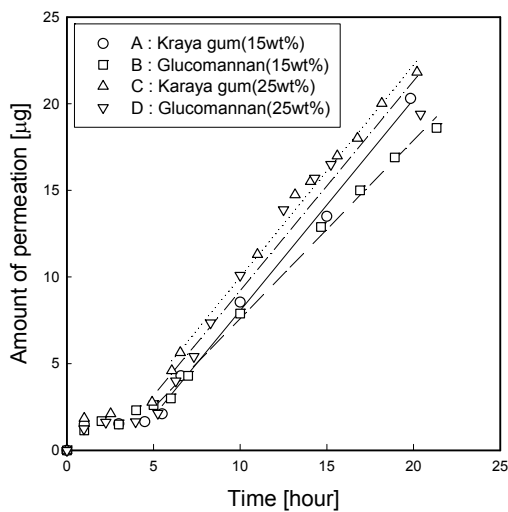


Fig. 3. Amount of Drug Release versus Time with karaya gum and glucomannan Ointment.

Fig. 4의 (a)와 (b)는 약물인 fibric acid의 투과속도가 상대적으로 빠른 karaya gum에 약물의 함량을 25wt%로 고정하고 투과촉진제의 종류와 첨가량의 변화에 따른 결과를 나타내었다.

기제 중 글리세린40mg(E)는 1.902 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$, 글리세린 80mg(G)는 2.108 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$, PEG400 40mg(F)는 2.112 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$, PEG400 80mg(H)는 2.336 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ 그리고 PEG800 80mg(I)는 1.624 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ 로 계산되었다.

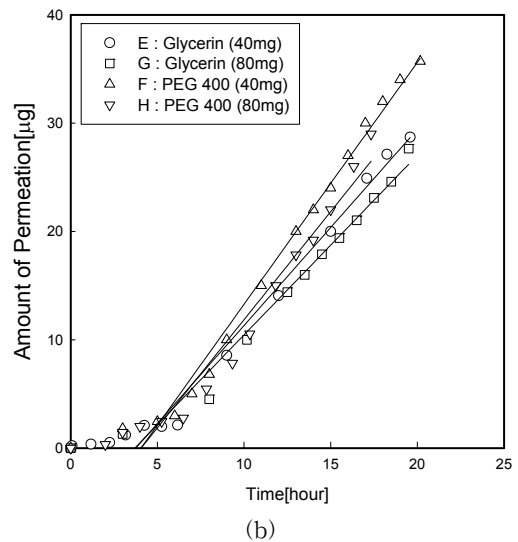
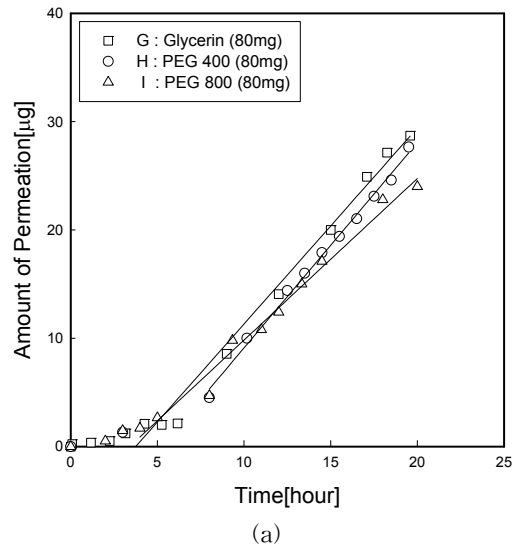


Fig. 4. Amount of 25wt% fibric acid Release Versus Time with karaya gum using Various Enhancers(a) and (b).

Table 2. Permeation Parameters of fibric acid through Rat Skin from Tansdermal

Formulation		Permeation parameters			
		$J_s(\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr})^a$	$T_L(\text{hr})^b$	$D(\text{cm}^2/\text{hr}\times 10^4)^c$	
karaya gum	A(fibric acid 45mg)	1.232	2.88	5.71	
glucomannan	B(fibric acid 45mg)	1.211	3.52	9.04	
karaya gum	C(fibric acid 75mg)	1.284	2.69	6.49	
glucomannan	D(fibric acid 75mg)	1.105	2.92	8.77	
karaya gum	E(Glycerin 40mg)	1.902	4.48	4.31	
Fibric acid	karaya gum	F(PEG 400 40mg)	2.112	5.22	3.82
	karaya gum	G(Glycerin 80mg)	2.108	4.44	4.30
75mg	karaya gum	H(PEG 400 80mg)	2.336	5.34	3.82
	karaya gum	I(PEG 800 80mg)	1.624	3.87	5.43

a) J_s : steady-state flux, b) T_L : lag time, c) D : diffusivity coefficient

결과에서와 같이 투과촉진제를 첨가했을 때 투과속도가 빠르게 나타났으며 특히 PEG 400을 사용했을 경우가 가장 빠른 투과속도를 나타냈고 글리세린, PEG 800의 순으로 투과속도의 증가를 나타냈다. 일반적으로 PEG 400은 지용성 약물의 용해보조제로서 그리고 세포 간 지질 혹은 keratinocyte의 구조에 영향을 미쳐 피부내 solution capacity를 증가시키는 기전에 의하여 피부투과를 촉진시켜주는 약물에 따라서 PEG의 함량이 증가할수록 투과가 증가되다가 어느 정도 이상의 함량에서는 감소되는 경향 [16]을 나타낸다고 알려져 있는데, 본 연구에서도 역시 PEG의 함량이 많아질수록 투과속도가 저하되는 경향을 나타내고 있다. 이와 같이 투과촉진제는 약물의 열역학적 활동도와 용해도 파라미터 등과 관련이 있다고 생각된다. 열역학적 활동도는 물질의 도피 경향을 나타내는 개념으로 기체 중 약물과 투과촉진제의 열역학적 활동도에서 유래하는 활동도의 구배가 경피투과를 촉진한다고 알려져 있다[17, 18, 20]. 즉, 투과촉진제의 효과는 matrix의 성질이 크게 영향을 미친다. 예를 들면 matrix와 투과 촉진제 간의 공용매 효과에 의해 matrix 중 약물의 용해도가 변하면 결과에 같은 농도라도 약물의 열역학적 활동도가 변하기 때문에 피부 투과량이 변할 수 있으며 matrix의 차이로 투과촉진제 자체의 피부 투과성에 영향을 받을 수 있리라 생각된다. 확산 현상의 결정 인자중 하나인 분배 계수나 활동도 계수를 포괄적으로 이해하는데 유용한 개념이 용해도 파라미터이다.

이중 약물과 투과촉진제의 지용성을 분배계수로 표현하며 일반적으로 약물과 투과촉진제의 친유성이 증가하게 되면 분배 계수도 증가하여 피부 투과속도도 증가한다.

이러한 용해도 파라미터는 유사한 분자간의 응집력을 나타내며 일반적으로 약물의 친유성이 증가하면 용해도 파라미터는 작아진다. 즉, 포화 용해도 이하의 농도 범위에서는 약물과 matrix 또는 matrix와 투과촉진제간의 용해도 파라미터 차이가 클수록 투과계수가 증가한다. 이는 Babu[24]의 실험에서도 증명되었듯이 용액중의 용질인 약물의 활동도 구배가 경피 흡수를 촉진한다고 알려져 있으며 약물의 피부중에서의 mobility에도 투과촉진제의 종류에 따라 차이가 나는 것으로 생각된다. 또한 대부분의 약물은 지용성인데 피부막을 약물이 용이하게 투과하기 위해서는 단백질과 지방으로 구성된 피부를 swelling하거나 각 분자가 차지하는 공간을 증가시켜야 한다.

시중에서 약물 matrix로서 일부 사용되고 있는 본 연구의 투과촉진제인 PEG은 글리세린보다 지용성 약물인 fibric acid에 대해 피부내의 지방과 단백질의 유동성과 피부 각질의 친유 상용성(lipophilicity)를 증가시킴으로서 각질로의 약물 분배를 촉진한다고 생각된다. 이와 같이 투과촉진제를 사용함으로써 약물의 투과도를 증가시킬 수 있었다. 그러나 수용성 또는 이온성 약물의 경피흡수를 촉진하는 pyrrolidone 및 decylmethylsulfoxide 같은 일부 투과촉진제는 피부에 매우 자극적인 경우가 있

으므로 투과촉진제의 종류와 남용은 피부에 대해 자극이나 손상을 발생하기도 하며 피부 자체의 안전성에 나쁜 영향을 줄 수 있으므로 투과촉진제의 종류와 양을 적절하게 조절해야만 한다[25].

4. 결 론

약물 방출조절 matrix로서 친연다당류를 겔 형태의 연고로 사용하고 항고지혈증제인 fibric acid와 혼합하여 matrix의 종류, 약물의 함량 및 투과촉진제의 종류에 따라서 경피흡수제를 제조하고 *in vitro*에서의 경피 흡수 실험을 진행하였다.

1. karaya gum일 경우가 빠른 투과속도를 나타내었으며 fibric acid의 함량이 많을수록 연고 matrix의 종류에 상관없이 상대적으로 빠른 투과속도를 나타내었다. 이는 일정 시간의 lag time에 도달 후 지용성인 생체 피부가 지용성 약물인 fibric acid를 투과시키기 때문이라 생각된다.
2. 투과촉진제를 첨가했을 때가 순수 약물만의 투과속도보다 빠른 투과속도를 나타내었으며 특히 PEG 400을 사용했을 경우가 가장 빠른 투과속도를 나타냈고 글리세린, PEG 800의 순으로 투과속도의 증가를 나타냈다.
3. 상용 연고 matrix로 일부 사용되고 있는 PEG는 글리세린 보다 지용성 약물인 fibric acid에 대해 피부내의 지방과 단백질의 유동성과 피부 각질의 lipophilicity를 증가시킴으로서 각질로의 약물 분배를 촉진한다고 생각된다. 비록 *in vitro*이기는 하나 본 실험을 통하여 항고지혈증제의 경피 흡수 가능성을 확인 할 수 있었다.

감사의 글

이 연구는 인천대학교 2008년도 자체연구비 지원에 의하여 수행된 것으로 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. J. Hadgraft, and R. H. Guy, Transdermal drug delivery. Developmental issues and research initiatives. Marcel Dekker Inc., New York, (1989).
2. B. W. Barry, Novel mechanisms and devices to enable successful transdermal drug delivery, *Eur. J. Pharm. Sci.*, **14**, 101 (2001).
3. S. Schreiber, A. Mahmoud, and A. Vuia., Reconstructed epidermis versus human and animal skin in skin absorption studies, *Toxicol In Vitro*. **19**, 813 (2005).
4. L. Jakasa, N Mohammadi, J. Krüse, and S. Kezic, Percutaneous absorption of neat and aqueous solutions of 2-butoxyethanol in volunteers. *Int Arch Occup Environ Health*. **77**, 79 (2004).
5. C. Jewell, J. Heylings, H. M. Clowes, and F. M. Williams, Percutaneous absorption and metabolism of dinitrochlorobenzene in vitro. *Arch Toxicol*, **74**, 356 (2000).
6. Kim, J. H., Cho, Y. J., and Choi, H. K., Effect of vehicles and pressure sensitive adhesives on the permeation of tacrine across hairless mouse skin, *Int. J. Pharm.*, **196**, 105 (2000).
7. S. C. Wilkinson, W. J. Maas, J. B. Nielsen, and L. C. Greaves, Interactions of skin thickness and physicochemical properties of test compounds in percutaneous penetration studies. *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, **79**(5), 405 (2006).
8. B. M. Magnusson, S. E. Cross, G. Winckle, and M. S. Roberts, Percutaneous absorption of steroids: determination of in vitro permeability and tissue reservoir characteristics in human skin layers. *Skin Pharmacol. Physiol*, **19**, 336 (2006).
9. V. Rogiers, E. Houben, and K. De Paepe, Transepidermal water loss measurements in dermato-cosmetic sciences, "Bioengineering of the skin", CRC press, Boca Raton, 63 (2005).

10. A. Teichmann, S. Heuschkel, U. Jacobi, G. Presse, R. H. Neubert, W. Sterry, and J. Lademann. Comparison of stratum corneum penetration and localization of a lipophilic model drug applied in an o/w microemulsion and an amphiphilic cream, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **67**, 699 (2007).
11. N. Kanikkannan, K. Kandimalia, S. Lamba, and M. Singh, Structure-activity relationship of chemical penetration enhancers in transdermal drug delivery, *Current Medicinal Chemistry*, **7**, 593 (2000).
12. C. Amnuaitkit, I. Ikeuchi, K. Ogawara, Higaki, K., and T. Kimura, Skin permeation of propranolol from polymeric film containing terpene enhancers for transdermal use, *Int. J. Pharm.*, **289**, 167 (2005).
13. M. Wang, Y. Yang, and P. W. Heng, Skin permeation of physostigmine from acid-based formulations: evaluating the choice of solvent. *Int. J. Pharm.*, **290**, 25 (2005).
14. S. Mutalik, and N. Udupa, Transdermal delivery of glibenclamide and glipizide : in vitro permeation studies through mouse skin, *Pharmazie.*, **12**, 838 (2002).
15. Z. Draelos, Assessment of skin barrier function in rosacea patients with a novel 1% metronidazole gel, *J. Drugs Dermatol.*, **4**, 557 (2005).
16. Wilkinson SC, Effects of experimental conditions on absorption of glycol ethers through human skin in vitro, *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, **75**, 519 (2002).
17. J. Sandt, J. A. Van Burgsteden, S. Cage, P. L., Carmichael, Dick I, Kenyon S, Korinth G, and Larese F., In vitro predictions of skin absorption of caffeine, testosterone, and benzoic acid: a multi-centre comparison study. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, **39**(3), 271 (2004).
18. A. Fini, V. Bergamante, G. C. Ceschel, C. Ronchi, and De Moraes CA, Control of transdermal permeation of hydrocortisone acetate from hydrophilic and lipophilic formulations. *AAPS. Pharm. Sci. Tech.*, **9**(3), 762 (2008).
19. J. Novotny, P. Kovarikova, M. Novotny, B. Janusova, A. Hrabalek, and K. Vavrova, Dimethylamino acid esters as biodegradable and reversible transdermal permeation enhancers: effects of linking chain length, chirality and polyfluorination, *Pharm. Res.*, **26**, 811 (2009).
20. K. Warner, Li, S. K., N. Suhonen, T. M., Chantasart, D., Bolikal, D., and Higuchi, W. I., Structure-activity relationship for chemical skin permeation enhancers; probing the chemical microenvironment of the site of action, *J. Pharm. Sci.*, **92**, 1305 (2003).
21. D. Assman, and H. Schulte, Relation of high-density lipoprotein cholesterol and triglycerides to incidence of atherosclerotic coronary artery disease (the PROCAM Experience), *Am. J. Cardiol.*, **70**, 733(1992).
22. J. E. Hokanson, and M. A. Austin MA, Plasma triglyceride level is a risk factor for cardiovascular disease independent of high-density lipoprotein cholesterol level: a meta-analysis of population-based prospective studies., *J. Cardiovasc. Risk*, **3**, 213 (1992).
23. M. Shevachman, N. Garti, and A. Shani, Enhanced percutaneous permeability of diclofenac using a new U-type dilutable microemulsion, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **34**, 403 (2008).
24. R. J. Babu, and J. Pandit, Effect of penetration enhancers on the release and skin permeation of bupranolol from reservoir-type transdermal delivery systems, *Int. J. Pharm.*, **288**, 325 (2005).
25. T. E. K Murthy, and V. S. Kishore., Effect of casting solvent on permeability of antihypertensive drugs through RS 100 films, *Asian J Pharm.*, **1**, 108 (2002).