

OMP-β-CD 포접화합물의 물리화학적 성질, 안정성 및 피부 투과 실험

이상영 · 이계원 · 최현순 · 지웅길[†]

충남대학교 약학대학
(1997년 10월 15일 접수)

Study of the Percutaneous Absorption, Stability and Physicochemical Properties of OMP-β-CD Inclusion Complex

Sang Young Lee, Gye Won Lee, Hyun Soon Choi and Ung Kil Jee[†]

College of Pharmacy, Chungnam National University, Taejon 305-764

(Received October 15, 1997)

Because omeprazole(OMP) is very unstable in aqueous condition, OMP-β-CD, the inclusion complex of OMP and β-cyclodextrin(β-CD) was made and physicochemical properties of it were compared with those of OMP. Skin permeability of OMP and OMP-β-CD in propylene glycol vehicle and the reciprocal action of β-CD with various enhancers were examined through hairless mouse. Adhesive patches were prepared with polyisobutylene and the skin permeability and stability of OMP were investigated. The inclusion complex showed higher solubility and lower partition coefficient than OMP itself. DMSO, 1-methyl 2-pyrrolidone and sodium cholate had an enhancing effect. However ethanol and polysorbate 80 hardly showed the enhancing effect of OMP. When sodium lauryl sulfate and sodium cholate as enhancer were added in patch, the former case showed higher permeability of OMP.

Keywords—OMP, Patch, Enhancer, OMP-β-CD, Polyisobutylene

오메프라졸(omeprazole, 이하 OMP)은 설피닐 벤즈이미다졸 유도체로서 H^+/K^+ -ATPase를 저해하여 소화성 궤양을 치료하는 proton pump 저해제이다.¹⁾ 그러나 OMP는 중성 내지 산성에서 물에 매우 녹기 어려우며, 산성 조건하에서 매우 불안정한 단점을 가지고 있어서 제제화에 어려움이 있다. 이러한 OMP의 약제학적 단점을 개선하여 안정하고 생체이용율이 우수한 제제를 개발할 목적으로 무기 알칼리염으로 만들거나 이온교환수지와와의 복합체 제조, 시클로덱스트린(cyclodextrin, 이하 CD)을 이용한 포접화합물의 제조 등 다양한 방법들이 모색되고 있는데 이 중 CD는 경피에 대한 투과 촉진 효과가 보고된 바 있다.²⁻⁴⁾ CD류 자체는 생리 활성이 없고 독성이 적으므로 약물 수송체의 운반체로 매우 적합하다고 할수 있다. 이러한 성질을 이용하여 CD로 포접화합물을 형성하면 빛이나 공기중의 산소에 민감한 약물의 안정화, 휘발성

물질의 저장 및 보관시의 안정성이 향상된다.⁵⁾ 또한 난용성 약물과 복합체를 형성하였을 때 약물의 물리 화학적 성질이 개선된다. 이와 같이 용해도가 좋지 않은 약물과 포접화합물을 형성하면 소수성 약물의 장관 흡수가 증가하고 피부 각질층의 구조에 영향을 주어 경피를 통한 흡수도 향상된다.

피부 투과의 가장 큰 장벽인 각질층을 적절한 투과 촉진제를 첨가함으로써 장벽으로서의 기능을 저하시켜 투과도를 증진시키고 지연 시간을 단축시킬 수 있다. 투과 촉진제의 선택은 사용하려는 제제의 설계 형식이나 구성 성분 및 활성 성분의 물리 화학적 성질에 따라 결정하여야 한다. 어떤 투과 촉진제가 효과를 나타내기 위해서는 충분한 열역학적 활성도가 있어야 그 효력을 나타내는데, 같은 농도에서도 용매 등의 제제의 구성 성분에 따라 열역학적 활성도가 달라지기 때문에 제반 모든 여건을 고려하여 투과 촉진제를 선택하여야 한다. 피부 투과 촉진제로 사용되기 위해서는 다음과 같은 자격 요건을 갖추어야 한다. 무독성, 무자극성이

[†]본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

며 과민 반응을 일으키지 않고 약리 작용을 나타내지 않는 물질이어야 한다. 그 효과가 순간적으로 나타나며 그 작용을 예견할 수 있고 피부에 일으키는 효과가 가역적이어야 한다. 또한 제제학적 및 미용적 측면에서 적절하여야 한다. 투과 촉진제의 분류는 그 작용 기전에 따라 크게 두 가지 종류로 나누어 피부내의 단백질에 영향을 주는 것과 지질의 구조에 영향을 주는 것으로 나누기도 하지만 일반적으로는 화학적인 구조의 특징에 따라 나눈다. 지금까지 많이 연구되어진 투과 촉진제로는 설펍사이드류⁶⁾, 피롤리돈류⁷⁾, 지방산계열의 화합물⁶⁾, 아존류⁸⁾, 계면활성제류⁶⁾, 유래아류, 알코올⁹⁾과 글리세롤류 등을 들 수 있겠다.

따라서 본 연구에서는 β -CD와 OMP의 포접 화합물을 제조하여 OMP의 안정성을 확보하는 동시에 β -CD에 의한 피부 투과 촉진 효과를 기대하였으며 각종 투과 촉진제와의 상호 작용을 검토하였다. 아울러 접착성 폴리머인 폴리이소부틸렌으로 접착성의 팻취를 제조하여 OMP의 안정성, 피부 투과 효과 등을 검토함으로써 경피제로서의 개발 가능성을 연구하고자 하였다.

실험 방법

시약

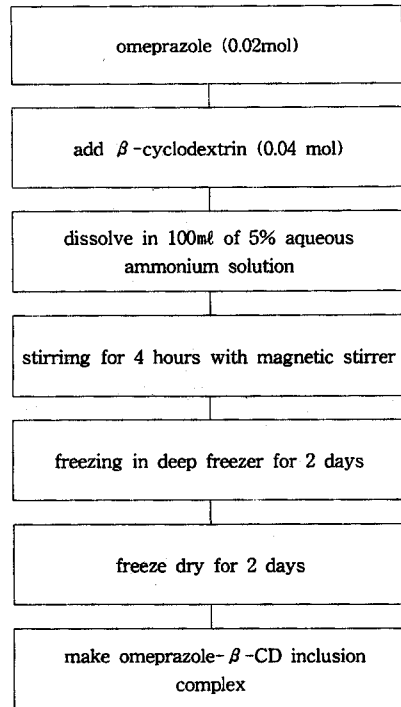
β -CD(미원식품), N-메칠 D-글루카민(Sigma chem. Co.), 광유(Sigma Chem. Co.), 폴리이소부틸렌(PIB, high molecule, Average Mw: 1,200,000, low molecule, Average Mw: 42,000, Aldrich Chem. Co.), 1-메칠 2-피롤리돈(Fluka Chemika), 플리에칠렌 글리콜 400(PEG 400, Junsei Chem. Co.), 프로필렌 글리콜(PG, Junsei Chem. Co.)은 구입 후 바로 사용하였고 OMP는 한미약품(주)에서 제공받았다. 기타 시약 및 용매는 일급 또는 특급을 사용하였다.

OMP와 β -CD 포접화합물의 제조

Kurozumi 등의 방법¹⁰⁾에 따라 OMP와 β -CD를 1:2 몰비율로 5% 암모니아수 100 ml에 용해시킨 다음 4시간 동안 교반하였다. 이것을 48시간 동안 완전히 냉동시킨 후 다시 48시간 동안 동결 건조하여 얻어진 분말을 검체로 하였으며(Scheme I) 공기 중의 수분 흡수를 방지하기 위하여 실험하기 전까지 데시케이터 내에 보관하였다. 또한 검체 중의 암모니아 이온 유무를 네슬러 시액을 사용하여 확인하였다.

OMP와 포접화합물의 물리 화학적 성질

PEG 400, PG, 40% PEG 400 생리식염수액(생리



Scheme I—Preparation of freeze dried omeprazole- β -CD inclusion complex.

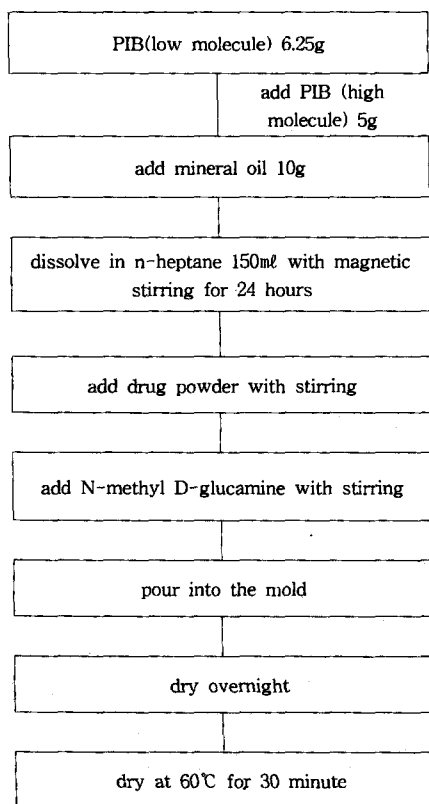
식염수액과 PEG 400을 60:40으로 혼합한 용액) 및 물에서의 용해도를 측정하였다. 또한 유수분배계수는 n-옥탄올과 클로로포름을 유상으로, 0.01M의 pH 5, 7 및 9의 인산염 완충 용액과 0.01M 수산화나트륨 용액을 수상으로 사용하여 측정하였다. 유상과 수상을 넣고 1시간 동안 200 rpm으로 진탕시키고 1시간 동안 방치하여 평형에 도달시킨 후 수상을 분취하고 이를 HPLC로 측정하여 유수분배계수를 계산하였다.

접착성 팻취의 제조

PIB(low molecule), PIB(high molecule) 및 광유를 각각 6.25:5:10의 중량비로 칭량하고 여기에 중량비로 75에 해당하는 n-헵탄올 가하고¹¹⁾ 24시간 동안 교반하여 완전히 녹인 다음 폴리머 용액의 0.5%의 약 물이나 포접화합물을 가해 균일하게 현탁시켰다. 또한 안정화제로 0.5%의 N-메칠 D-글루카민을 가한 후, 일정한 크기의 주형에 부어 하룻밤 건조시키고 60°C에서 30분간 더 건조시켜 잔여 용매를 완전히 날려 보냈다(Scheme II).

안정성 실험

OMP와 OMP- β -CD를 0.5% N-메칠 D-글루카민과 아르기닌이 함유된 PG, 40% PEG 400 생리식염수



Scheme II—Preparation of simple adhesive type patch.

액 및 물에 각각 OMP로서 100 μg/ml의 농도로 용해시켜 20, 40, 50°C의 항온기에 넣고 5, 10, 15 및 20일마다 일정량의 용액을 취하여 잔존하는 OMP의 양을 분석하였다.

또한 제조된 패치를 20, 40 및 50°C의 항온기에 넣고 5, 10, 15, 20 및 30일마다 검체를 취해 잔존하는 OMP의 함량을 측정하였다.

무모마우스를 이용한 in vitro 피부투과실험

8-10주령 웅성 무모 마우스의 피부를 적출하여 PG vehicle로부터 투과도를 Franz형 확산 셀^{12,13}을 사용하여 37±0.5°C에서 측정하였다. receptor phase는 40% PEG 400 생리 식염수액 15 ml로 채웠으며 donor phase는 OMP로서 5 mg/ml의 농도로 적용하였다. 일정 시간 간격마다 receptor phase 0.1 ml를 채취하고 즉시 동온 동량의 40% PEG 40%액으로 보충하였다. 각 투과 촉진제에 따른 약물의 피부 투과도는 48시간 까지 하였고 실험 기간중의 미생물에 의한 피부 변성을 막기 위해 receptor phase에 황산 네오마이신을 0.05%로 첨가하였다.

OMP의 피부 투과에 미치는 투과 촉진제의 영향—PG vehicle에서 각종 투과 촉진제의 농도를 조정하여 약물의 피부 투과도에 미치는 영향을 알아보았다. 우선 PG vehicle에서 약물 자체의 투과도를 알아보았고 투과 촉진제로서 에탄올은⁹⁾ 20-60%, 계면 활성제인 폴리솔베이트 80은 1-5%, DMSO⁶⁾는 40-80%, 1-메칠 2-피롤리돈은^{7,14)} 5-20%, sodium cholate는 1-5%가 되도록 PG vehicle에 첨가하여 각각의 피부 투과도를 측정하였다.

OMP-β-CD 포접 화합물에 대한 투과 촉진제의 영향—촉진제를 첨가하지 않고 포접화합물 자체의 피부 투과도를 측정하여 약물의 피부투과도와 비교하였다. OMP의 피부 투과 실험에 사용했던 투과 촉진제 중 DMSO, 1-메칠 2-피롤리돈, sodium cholate를 선택하여 OMP-β-CD 포접화합물이 함유된 PG vehicle에 적용하였다. 또한 β-CD의 양에 따른 피부 투과 작용을 검토하기 위하여 DMSO의 양을 고정시키고 β-CD와 OMP를 2:1, 3:1, 4:1의 몰비율로 포접화합물을 제조하여 피부 투과도를 측정하였다.

패치의 피부 투과 실험—폴리머 용액에 약물이나 포접화합물이 0.5% 함유된 패치를 제조하여 건조시킨 것을 적출한 무모마우스의 피부에 완전히 부착시키고 피부 투과도를 측정하였다. 또한 각각의 패치에 투과 촉진제로 sodium cholate와 sodium lauryl sulfate¹⁵⁾를 0.5%씩 첨가하여 OMP와 포접화합물의 피부 투과에 미치는 영향을 검토하였다.

결과 및 고찰

용해도

25°C에서 물에 대한 용해도를 측정하였을 때 OMP 자체는 0.14 mg/ml이었으나 포접화합물은 0.89 mg/ml로서 약 6배 이상이 증가하였다. 그러나 PEG 400에서의 용해도는 OMP가 더 높게 나타났다(Table I).

Table I—Solubility of Omeprazole and Omeprazole-β-CD Inclusion Complex in Various Solution at 25°C(mean ± S.D., n=3).

Solvent	Solubility(mg/ml)	
	Omeprazole	Omeprazole-β-CD
PEG 400	21.72±1.28	4.50±0.68
PG	12.65±2.14	15.08±0.96
40% PEG 400 saline	1.36±0.24	1.61±0.18
H ₂ O	0.147±0.02	0.89±0.07

Table II—Liquid-water Partion Coefficient of Omeprazole (mean±S.D., n=3)

Liquid phase	Water phase	K _{0/w} (mean±S.D., n=3)	
		Omeprazole	Omeprazole-β-CD
n-Octanol	pH 5 buffer*	345.67±8.28	112.7±9.35
	pH 7 buffer*	158.18±3.29	124.02±11.26
	pH 9 buffer*	100.3 ± 5.13	92.35±4.87
	0.01N-NaOH	0.12±0.03	0.24±0.06
CHCl ₃	pH 5 buffer	180.4±7.52	35.85±3.68
	pH 7 buffer	142.12±6.29	61.19±4.71
	pH 9 buffer	77.79±4.32	47.53±2.54
	0.01N-NaOH	0.587±0.02	0.87±0.008

*buffer : 0.01M phosphate buffer

유수 분배 계수

유수분배계수는 염기성이 강해질수록 낮아졌는데 이것은 OMP 자체가 산성이나 중성의 수용액에서 매우 난용성이고 염기성의 수용액에 더 잘 녹기 때문인 것으로 사료된다. 유수분배계수도 약물 자체보다는 포접화합물이 더 낮은 값을 나타내었다(Table II).

안정성 실험

OMP는 PG 용액내에서 N-메틸 D-글루카민보다 아르기닌에 의해 더 안정한 효과를 보였지만 40% PEG 400 생리 식염수액이나 물에서는 N-메틸 D-글루카민에 의해 더 안정하였다. 또한 제조된 패취에서는 약물에 비해 포접화합물의 안정성이 증가되었고 N-메틸 D-글루카민을 첨가하므로써 안정성이 더 좋아졌다(Figure 1).

in vitro 피부투과 실험

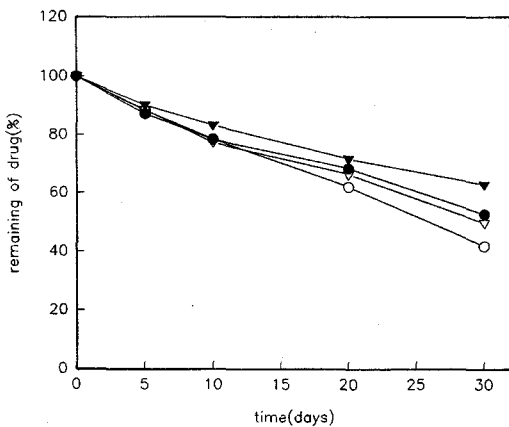


Figure 1—Remaining amount of omeprazole at adhesive patch at 40°C. Key: -▽- inclusion complex containing 0.5% N-methyl D-glucamine, -●- inclusion complex, -▽- OMP containing 0.5% N-methyl D-glucamine, -○- OMP

투과 촉진제가 OMP의 피부 투과에 미치는 영향— PG vehicle에서 투과 촉진제를 첨가하지 않은 약물 자체의 피부 투과는 48시간이후에도 거의 이루어지지 않았다(Figure 2).

OMP의 피부 투과에 미치는 투과 촉진제의 영향을 살펴보기 위해 에탄올과 폴리솔베이트 80을 각각 20, 40 및 60%, 1, 2 및 5%의 농도로 변화시키면서 첨가하였으나 48시간 이후에도 receptor phase내에서 유

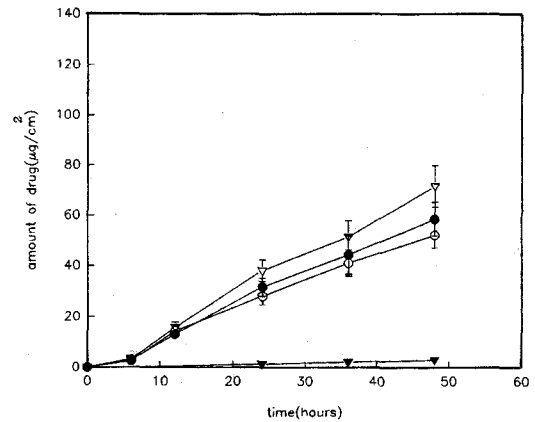


Figure 2—Permeation profiles of omeprazole through excised hairless mouse skin from PG vehicle as various β-CD molar ratio with fixing 60% DMSO at 37°C (Mean±S.D., n=3). Key: -▽- β-CD:omeprazole=4:1, -●- β-CD:omeprazole=3:1, -○- β-CD:omeprazole=2:1, -▽- β-CD:omeprazole=2:1 (not containing DMSO)

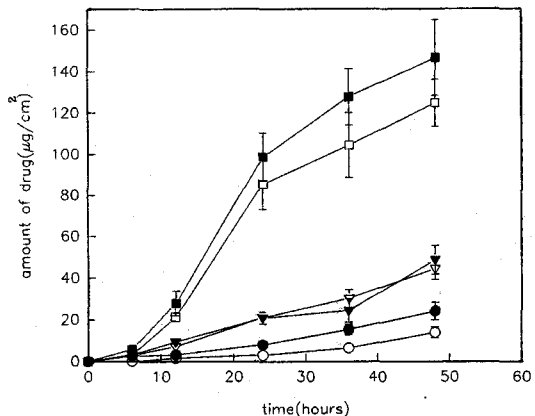


Figure 3—Permeation profiles of omeprazole through excised hairless mouse skin from PG vehicle containing various DMSO concentration at 37°C(Mean±S.D., n=3). Key: -■- inclusion complex containing 80% DMSO, -□- 80% DMSO, -▽- inclusion complex containing 60% DMSO, -▽- 60% DMSO, -●- inclusion complex containing 40% DMSO, -○- 40% DMSO

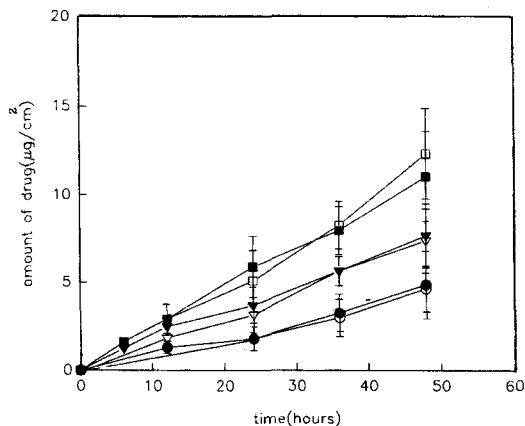


Figure 4—Permeation profiles of omeprazole through excised hairless mouse skin from PG vehicle containing various 1-methyl 2-pyrrolidone concentration at 37°C (Mean±S.D., n=3). Key: -■- inclusion complex containing 20% 1-methyl 2-pyrrolidone, -□- 20% 1-methyl 2-pyrrolidone, -▼- inclusion complex containing 10% 1-methyl 2-pyrrolidone, -▽- 10% 1-methyl 2-pyrrolidone, -●- inclusion complex containing 5% 1-methyl 2-pyrrolidone, -○- 5% 1-methyl 2-pyrrolidone

의성 있는 약물의 양이 검출되지 않았다. 따라서 에탄올과 폴리솔베이트 80은 OMP의 피부 투과도에 영향을 미치지 않았다.

DMSO의 농도를 40, 60 및 80%로 변화시키면서 약물의 피부 투과도를 측정할 결과 40% DMSO에서는 6시간 이후 약물이 검출되기 시작하여 점차적으로 투과량이 증가하였다. 또한 80% DMSO에서는 12시간 이후에 투과된 약물량이 급격히 증가하였는데 이는 DMSO가 피부를 비가역적으로 손상시키는데 걸리는 시간의 차이가 농도에 의존하여 단축된 것으로 사료된다(Figure 3).

1-메틸 2-피롤리돈은 농도가 5, 10 및 15%로 증가할수록 투과된 OMP의 양이 증가 하였으며 5%에서는 24시간 이후에 약물이 검출되었으나 농도를 10%로 증가시키면 12시간만에 약물을 검출할 수 있었다. 피롤리돈과 그 유도체들은 주로 피부를 수화시켜 각질층의 극성 부분에 영향을 끼치는 것으로 추측된다(Figure 4).

Sodium cholate는 수용액상에서 약산성 내지 중성을 나타내므로 피부 자극이 적으며 계면 활성제의 역할도 한다. sodium cholate에 의한 OMP의 피부투과 촉진 효과는 농도가 높아 질수록 증가하였으며 이는 1-메틸 2-피롤리돈의 효과와 비슷하였다(Figure 5).

투과 촉진제가 OMP-β-CD 포접화합물의 피부 투과에 미치는 영향—약물 자체로서는 피부 투과가 이루어

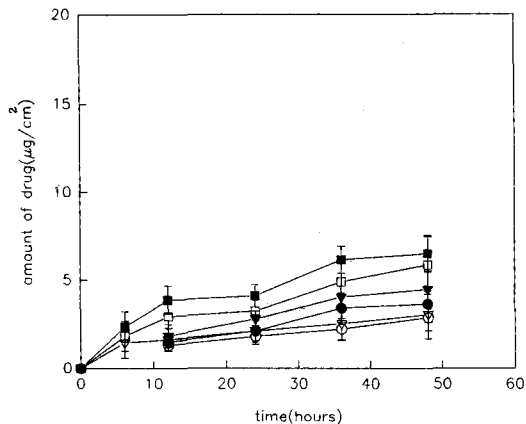


Figure 5—Permeation profiles of omeprazole through excised hairless mouse skin from PG vehicle containing various sodium cholate concentration at 37°C (Mean±S.D., n=3). Key: -■- inclusion complex containing 5% sodium cholate, -□- 5% sodium cholate, -▼- inclusion complex containing 2% sodium cholate, -▽- 2% sodium cholate, -●- inclusion complex containing 1% sodium cholate, -○- 1% sodium cholate

어지지 않았으나 포접화합물은 투과 촉진제를 첨가하지 않았어도 24시간 이후부터 약물이 검출되었다. 에탄올이나 폴리솔베이트 80은 약물의 피부 투과에 별다른 영향을 끼치지 않았기 때문에 DMSO, 1-메틸 2-피롤리돈, sodium cholate를 투과 촉진제로 선택하고 포접화합물을 PG vehicle에 적용하여 투과도를 측정하였다. DMSO의 농도를 40, 60 및 80%로 증가시키면서 포접화합물의 피부투과도를 측정하였을 때 약물과 같이 DMSO의 농도가 증가할수록 피부투과가 증가하였으며 투과율은 약물을 포접시키지 않았을 때보다 증가하였다. 이것은 β-CD에 의한 촉진 작용으로 추정된다.

또한 DMSO의 양을 60%로 고정시키고 포접에 사용된 β-CD의 몰비에 따른 피부투과도를 측정하였을 때 β-CD의 양이 증가 할수록 피부 투과도가 증가하였다.

DMSO와 β-CD에 의해 약물의 피부투과는 상가적으로 증가한 반면 sodium cholate는 포접화합물과의 상가작용이 미약하였고 1-메틸 2-피롤리돈은 약물 자체나 포접화합물의 피부 투과도에 별다른 차이를 나타내지 않았다.

팻취의 피부 투과도

Sodium cholate와 sodium lauryl sulfate를 각각 0.5%로 첨가하였을 때 모두 투과 촉진 효과를 보여주었고 sodium lauryl sulfate를 첨가한 팻취에서 더 많

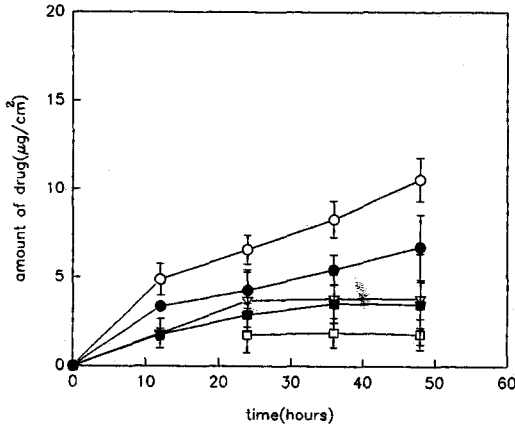


Figure 6—Permeation profiles of omeprazole through excised hairless mouse skin from adhesive patch at 37°C (Mean±S.D., n=3). Key: ○—containing OMP and 0.5% sodium lauryl sulfate, ●—containing inclusion complex and 0.5% sodium lauryl sulfate, ▽—containing OMP and 0.5% sodium cholate, ■—containing inclusion complex and 0.5% sodium cholate, □—containing only inclusion complex

은 약물이 투과되었다. 포접화합물을 사용한 팻취가 OMP를 사용한 팻취보다 접착력이 감소하였으며 약물의 투과도 역시 감소하였는데 이것은 팻취에 적용하는 분말의 양이 증가하기 때문에 부착력을 감소시켜 투과에 영향을 미친 것으로 사료된다(Figure 6).

결론

1. OMP는 β -CD와 포접화합물을 형성함으로써 물에 대한 용해도가 6배 이상 증가하였고 유수분배계수는 낮아졌다.

2. 40% PEG 400 생리 식염수액이나 물에서 N-메칠 D-글루카민이 안정화제로서 아르기닌보다 효과가 우수하였다. 또한 PIB를 사용한 팻취에서도 포접화합물이 약물 자체보다 안정하였고 N-메칠 D-글루카민을 첨가하므로써 안정성이 더욱 증가되었다.

3. OMP는 피부에 대한 투과성을 보이지 않았으나 포접화합물에서는 낮은 정도이지만 피부에 대한 투과성을 보여 주었다.

4. 피부 투과를 촉진시키는 작용은 DMSO의 작용이 가장 우수하며 1-메칠 2-피롤리돈, sod. cholate의 순으로 나타났다. 반면 에탄올이나 폴리솔베이트 80은 거의 투과 촉진작용을 보여 주지 않았다.

5. 팻취에서는 sodium cholate보다는 sodium lauryl sulfate를 첨가하였을 때 보다 많은 약물이 투과되었다.

문헌

- G. Sachs, Pump blockers and ulcer disease, *N. Engl. J. Med.*, **310**, 785-786 (1984).
- U. Vollmer, B. W. Muller, J. Peters, J. Mesens, B. Wilfert and T. Peters, A study of the percutaneous absorption enhancing effects of cyclodextrin derivatives in rats, *J. Pharm. Pharmacol.*, **46**, 19-22 (1994).
- H. Okamoto, H. Komatsu, M. Hashida and H. Sezaki, Effects of β -cyclodextrin di-O-methyl- β -cyclodextrin on the percutaneous absorption of butylparaben, indomethacin and sulfanilic acid, *Int. J. Pharm.*, **30**, 35-45 (1986).
- C. Agerholm, L. Bastholm, M. H. Nielsen and F. Elling, Epithelial transport and bioavailability of intranasally administered human growth hormone formulated with the absorption enhancers didecanoyl-L- α -phosphatidylcholine and α -cyclodextrin in rabbits, *J. Pharm. Sci.*, **83**(12), 1706-1711 (1994).
- J. I. So, C. H. Lee and G. J. Rhee, Studies on the formation of inclusion complex between omeprazole and β -cyclodextrin, *Yakhak Hoeji*, **35**(5), 372-378 (1991).
- Bruce J. Aungst, Nancy J. Rogers and Eli Shefter, Enhancement of naloxone penetration through human skin in vitro using fatty acids, fatty alcohols, surfactants, sulfonoxides and amide, *Int. J. Pharm.*, **33**, 225-234 (1986).
- A. H., B. M. and E. Baker, Vehicle effect on topical drug delivery: IV. Effect of N-methyl pyrrolidone and polar lipids on percutaneous drug transport, *Int. J. Pharm.*, **43**, 233-240 (1988).
- B. B. Michniak, M. R. Player and C. A. Phillips, In vitro evaluation of a series of azone analogs as dermal penetration enhancers: IV. Amines, *Int. J. Pharm.*, **116**, 201-209 (1995).
- K. S., D. K., E. N. and Y. Morimoto, Difference in enhancing effect of 1-menthol, ethanol and their combination between hairless mouse and human skin, *Int. J. Pharm.*, **113**, 189-197 (1995).
- M. Kurozumi, N. Nambu and T. Nagai, Inclusion compounds of non-steroidal anti-inflammatory and other slightly water soluble drugs with α - and β -cyclodextrin in powdered form, *Chem. Pharm. Bull.*, **23**, 3062-3068 (1975).
- B. W. Barry, Dermatological formulation, Marcel Dekker Inc., New York, 49-94 (1983).
- S. H. Kam, E. S. Park, and S. C. Chi, Skin permeation of indomethacin from gels, *J. Kor.*

- Pharm. Sci.*, **25**(2), 129-136 (1995).
- 13) M. D. Vlachou, D. M. Rekkas, P. P. Dallas, N. H. Choulis, Development of and in vitro evaluation of griseofulvin gels using Franz diffusion cells, *Int. J. Pharm.*, **82**, 47-52 (1992).
- 14) H. Sasaki, Y. Mori, J. Nakamura and J. Shibasaki, Enhancing effect of pyrrolidone derivatives on transdermal drug delivery: II. Effect of application concentration and pre-treatment of enhancer, *Int. J. Pharm.*, **60**, 177-183(1990).
- 15) C. Ribaud, J. C. Garson, J. Doucet and J. L. Leveque, Organization of stratum corneum lipids in relation to permeability: Influence of sodium lauryl sulfate and preheating, *Pharm. Res.*, **11**(10), 1414-1418 (1994).