

## 린코마이신 크림의 피부투과를 위한 처방설계

김미정 · 김영일<sup>1</sup> · 양재현<sup>#</sup>  
우석대학교 약학대학, <sup>1</sup>건양대학교 제약공학과  
(Received June 3, 2003; Revised June 13, 2003)

## Formulation Design for Skin Permeation of Lincomycin Cream

Mi-Jeong Kim, Young-Il Kim<sup>1</sup> and Jae-Heon Yang<sup>#</sup>  
College of Pharmacy, Woosuk University, Chonju 565-701, Korea  
<sup>1</sup>Pharmaceutical Engineering, Konyang University, Nonsan 320-711, Korea

**Abstract** — Lincomycin, a selective tyrosinase blocker, has been thought to be effective in the treatment of melanogenesis, ephelis, post inflammatory pigmentation, and facial discoloration. In an attempt to develop a transdermal preparation for lincomycin, this study was designed to examine the appropriate contents of various surfactants and ethanol in the cream preparation. Frans type diffusion cell was used to investigate permeation efficiency of the preparation, and lincomycin in the receptor phase was measured by HPLC. After having a 1.5 hrs of leg time, the permeability of lincomycin was rapidly increased by adding surfactants, and varied with different types of surfactants after 10 hrs, the permeability of Brij 56<sup>®</sup> preparation (501.4±45 µg/ml) was greater than that either of Labrasol<sup>®</sup> (263.9±33.7 µg/ml) or Tween<sup>®</sup> 20(386.2±26.7 µg/ml). Ethanol also increased the permeability of lincomycin.

**Keywords** □ Lincomycin, transdermal preparation, permeation efficiency, surfactants

피부는 다층 구조를 가진 기관으로서 최근 이온화된 약물이나 일부 수용성 약물들은 피부 부속물을 통한 흡수 속도가 각질을 통한 것보다 빠르다고 보고되어 있으나,<sup>1)</sup> 이들 피부 부속물들은 전체의 약물흡수에 기여하는 바는 매우 적다.<sup>2)</sup> 각질을 통한 약물의 흡수는 다시 피부 각질 세포를 직접 통과하는 경로와 피부 각질 세포 간극의 비교적 비극성의 지질층을 통과하는 경로로 나눌 수 있으며 지용성인 약물은 일반적으로 피부 각질세포를 통하여 분배가 되는 반면 린코마이신과 같이 수용성이 큰 약물은 주로 피부 각질세포 사이의 간극을 통하여 표피를 통과한다.<sup>3)</sup>

린코마이신의 활성은 bacteria에서 50S ribosomal subunit와 결합하여 단백질 합성을 억제하며<sup>4)</sup> 리보솜으로부터 peptidyl-tRNA를 분리하고<sup>5)</sup> 포유류에서 미토콘드리아의 RNA 및 단백질 합성을 억제한다.<sup>6)</sup> 최근 Kim 등<sup>7)</sup>은 린코마이신이 tyrosinase 및 tyrosinase related protein 1(TPR1)에 작용하여 melanogenesis를 억제함과 동시에 glucocorticoid에 의해 유도된 melanogenesis

에도 유효하다고 보고하였으며, 이에 의하여 린코마이신이 기미, 주근깨 및 염증 후의 색소 침착증을 개선시킬 수 있을 것으로 기대되고 있다.

Tyrosinase는 tyrosine을 L-3,4-dihydroxyphenylalanine으로 수산화하는 효소로서 멜라닌 생합성에서 율속작용을 하고 melanogenic pathway에서 5,6-dihydroxyindole oxidase로서 작용한다고 보고되었으며 또한 많은 post-tyrosinase 인자들이 포유동물의 멜라닌 생합성을 조절한다고 보고되었는데<sup>8)</sup> TPR1은 5,6-dihydroxyindole-2-carboxylic acid oxidase로 작용하며<sup>9)</sup> TPR2는 dopachrome tautomerase로 작용<sup>10)</sup>함으로써 멜라닌 생합성에 관여하는 것으로 밝혀졌다.

이에 저자는 피부에 멜라닌 색소가 과다하게 침착하는 질환인 기미에 대하여 린코마이신을 피부에 적용 시 수용성 물질인 린코마이신의 피부투과를 용이하게 하기 위하여 다양한 기제로 크림을 제조하였다. 크림제는 쉽게 피부에 도포 할 수 있는 w/o 또는 o/w형의 반고형 유제로서 오일과 계면활성제가 린코마이신의 각질층투과를 촉진시킬 수 있을 것으로 기대되어 올레인산과 다양한 계면활성제를 함유하는 린코마이신 크림을 제조하고 각각의 피부 투과 특성을 비교 검토하였다.

<sup>#</sup>본 논문에 관한 문의는 저자에게로  
(전화) 063-290-1570 (팩스) 063-290-1567  
(E-mail) jhyang@woosuk.ac.kr

**실험방법**

**재료 및 시약**

Lincomycin, Tween<sup>®</sup> 20(Polyoxyethylene sorbitan mono-laurate) 및 Brij 56<sup>®</sup>(Polyoxyethylene 10 cetyl ether)은 Sigma 사(S. Louis, MO, U.S.A.)의 제품을 사용하였고, triethanolamine 은 IC사의 제품, Labrasolmonolaurate(Polyethyleneglycol 8 glyceryl caprilate)은 Gattefosse 사의 제품을 사용하였다. 기타 시약은 시판 시약 특급을 사용하였다.

**기기 및 장치**

HPLC system(Unipoint system, Gilson, France), homogenizer(CMNI mixer 17105, Du Pont Co., Wilmington, Delaware, U.S.A), centrifuge(VS-4000, Vision Scientific Co., seoul, Korea), constant humidity and temperature tester(PA-A2 GH5, Vision Scientific Co., seoul, Korea) 및 viscometer(RVT, Brookfield, Middleboro, Massachusetts U.S.A) 등을 사용하였다.

**실험동물**

무배생쥐(5주령, 수컷, 25±5 g, Charles River Lab., USA)를 분양 후 사료와 물을 자유롭게 섭취하도록 하여 일주일간 안정화시킨 후 사용하였다.

**크림의 제조**

린코마이신 크림의 제조는 먼저 정제수 약 20.0 ml에 린코마이신 100.0 mg을 용해시킨 후 계면활성제를 가하고 메칠파라벤과 프로필파라벤을 소량의 에탄올에 녹여 가한 다음 올레인산을 넣어 전량 100.0 ml로 만들어 3,500 rpm에서 5분간 균질화하였다. 계면활성제로서 Tween 20, Brij 56<sup>®</sup>, Labrasol<sup>®</sup>을 유화제로서 triethanolamine을 사용하였다. 또한 에탄올 첨가에 의한 피부 투과도 변화를 알아보기 위하여 에탄올 함량을 0, 15, 30%로 하여 크림을 제조하였다(Table I).

**Table I** - Formular of lincomycin cream with various surfactants

	Cream		
	A	B	C
Lincomycin	0.1	0.1	0.1 g
Ethanol	5.0	5.0	5.0 g
Oleic acid	10.0	10.0	10.0 g
Labrasol	15.0	-	-
Iween 20	-	15.0	-
Brij 56	-	-	15.0 g
Triethanolamine	1.0	1.0	1.0 g
Methyl paraben	0.18	0.18	0.18 g
Propyl paraben	0.02	0.02	0.02 g
Water ad.	100.0	100.0	100.0 g

**린코마이신의 정량**

린코마이신의 함량은 HPLC로 분석하였는데 고정상으로는 ZORBAX ODS-2(4.6×250 mm)를 사용하였으며, 컬럼의 온도는 46°C를 유지하였다. 검출기의 파장은 210 nm, 유속은 1.0 ml/min 이었으며 이동상은 인산 13.5 ml를 물에 녹여 1000 ml로 하고 암모니아수 : 아세트니트릴 : 메탄올(780 : 150 : 150)로 구성되었으며 혼합 후 암모니아수를 넣어 pH 5.5로 조절하였다.

**린코마이신의 피부 투과**

린코마이신 크림의 피부투과 측정은 Franz형 확산 셀을 사용하였다.<sup>11,12)</sup> 피부 투과량은 체중 25±5 g의 무배생쥐의 등피부를 잘라 실험에 사용하였다. 약 3 cm×3 cm 면적으로 등피부를 잘라낸 후 피하 지방과 조직들을 생리식염수를 사용해 피부가 상하지 않도록 제거한 다음 진피가 receiver cell을 향하도록 하여 receiver cell위에 놓고 top-cell을 표피 위에 장착한 후 고정하였다. Receiver cell은 항온수조를 사용하여 37°C를 유지시켰으며 평형상태에 도달하도록 30분간 방치하였다. 이 때 약물의 투과 면적은 2.84 cm<sup>2</sup>, receptor phase는 pH 7.4 인산염 완충액과 0.9% 염화나트륨 용액의 동량 혼합액 10.4 ml를 사용하였다. 크림 2 g을 피부 표면에 바르고 일정시간마다 receptor phase에서 0.1 ml씩 취하면서 즉시 동온 동량의 신선한 receptor phase 액으로 보충하였다. 채취된 용액을 mobile phase로 희석한 후 milipore membrane으로 여과하고 HPLC로 투과된 약물의 양을 정량 하였다.

**경피 흡수 자료 분석**

피부의 단위 면적 당 투과 린코마이신의 양을 시간에 대한 함수로 나타낸 후 다음의 식을 이용하여 투과 파라미터들을 구하였다.<sup>13,14)</sup> 단위면적 당 투과된 린코마이신의 축적량을 시간에 대하여 plotting한 후 직선성을 나타내는 부위의 기울기로부터 평형상태에서의 flux를 계산하였으며, Lag time(TL)은 직선이 x축을 통과하는 시간으로 하였다.

$$J_s = \frac{1}{A} \left( \frac{dQ}{dt} \right)_{ss} = PC$$

J<sub>s</sub>는 평형 상태에서의 투과 속도(μg/cm<sup>2</sup>/hr)이고, A는 약물의 투과가 일어나는 피부의 면적(cm<sup>2</sup>)이고 (dQ/dt)<sub>ss</sub>는 평형 상태에서의 단위 시간당 피부를 통과하는 약물의 양, C는 린코마이신의 기체에 함유된 농도(μg/ml)이고, P는 피부를 통한 약물의 확산 계수(cm/hr)이다.

**제제의 피부 잔류량**

피부 잔류량 실험은 Lee 등<sup>15)</sup>의 방법에 따라 측정 하였는데, 먼저 피부투과실험 직후에 피부상에 잔류되어 있던 크림을 제거

하고 생리식염수를 사용하여 피부를 충분히 씻어낸 후 크림이 직접 바른 부분의 피부만을 절제한 후 -66°C 냉동건조기에 보관한 다음 해동시켜 무게를 잰 뒤 tris buffer 1ml를 가하고, homogenizer를 사용하여 균질화하고, 균질액에 *t*-butyl ethyl ether 5ml를 가하여 원심분리시킨 후 상정액 1ml를 취하고 50°C에서 증발 건조시킨 후 용제에 녹여 HPLC에 주입하였다.

**결과 및 고찰**

**크림의 제조**

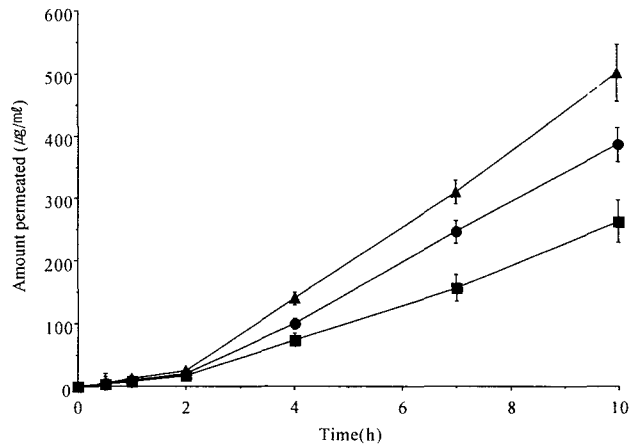
린코마이신은 수용성 약물로서 지용성이 낮아 피부투과가 용이하지 못하므로 계면활성제를 사용하여 피부투과를 용이하게 할 수 있도록 하였다. 여러종류의 계면활성제가 피부투과 촉진제로 사용될 수 있으나 양이온성 또는 음이온성 계면활성제는 피부를 자극함으로 적합하지 않으며 비이온성 계면활성제중 HLB가 친수성에 가까운 계면활성제 3종을 선택하였다. 계면활성제와 각질층의 상호작용은 계면활성제의 친수성에 의해 좌우되며 다양한 종류의 long-chain fatty acid들을 사용하여 약물의 경피 흡수를 증가시킬 수 있는데 그 중 가장 많이 사용되는 것이 올레인산이다.<sup>16)</sup> 따라서 피부투과성이 우수한 기제인 올레인산을 유상으로 하여 o/w 형 크림을 제조하였는데 크림에는 피부에 적용이 용이하였고, 피부친화성이 우수하여 린코마이신 제제에 적합하다고 판단되었다.

**크림의 점도**

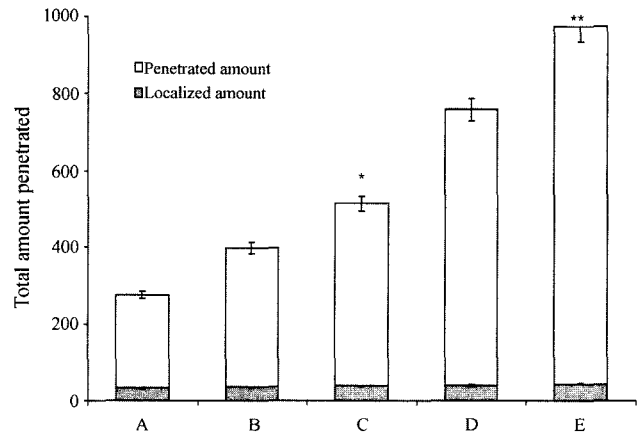
크림의 외형은 유백색으로 안정하여 상의 분리가 일어나지 않았고 피부에 바르면 매끄러운 막이 형성되었고 쉽게 수세되었다. 각 제제의 겔보기 점도를 측정한 결과 Brij® 56에서 6,000 cps로 가장 높았고, Tween® 20에서 3,300 cps였으며, Labrasol®에서는 640 cps로 가장 낮게 나타났다.

**계면활성제에 따른 피부투과**

크림 중의 린코마이신은 피부도포 후 약 60분 정도의 지연시간(Lag time)을 지나면서 흡수량이 높아지기 시작하였으며 모든 처방에서 동일한 양상을 나타내었다. 계면활성제별로 시간에 따른 투과도를 비교해 보면 투여 10시간 후 투과된 약물의 양은 Tween® 20에서 약 386.2±26.7 µg/ml, Labrasol® 232.2±32.0 µg/ml이었는데 Brij® 56에서는 463.7±42.3 µg/ml로서 가장 높은 투과도를 나타내었으며, 잔류량은 Labrasol®에서 약 31.7±3.0 µg/ml, Tween® 20은 34.8±4.2 µg/ml이였으며, Brij® 56에서는 37.7±4.4 µg/ml로 나타나 피부 잔류량이 가장 높았으나 유의성 있는 차이가 나타나지는 않았다(Fig. 1). 약물의 투과량과 잔류량의 합을 비교한 결과 실험 10시간 후 총 투과된 약물의 양은 Brij® 56에서 501.4±45 µg/ml로 가장 높게 나타났으며,



**Fig. 1** – Permeation profiles of lincomycin from cream containing various surfactants (n=3). Key : ■; Labrasol®, ●; Tween® 20, ▲; Brij® 56.



**Fig. 2** – Comparison of penetrated amount and localized amount in hairless mouse skin after 10 hours (n=3). \* significantly different p<0.05 from Labrasol®, \*\* significantly different p<0.05 from Brij® 56. A; Labrasol®, B; Tween® 20, C; Brij® 56®, D; Brij® 56® + Ethanol 15%, E; Brij® 56® + Ethanol 30%.

Labrasol®과 유의성 있는 차이를 나타내었다(Fig. 2). 제제의 피부 투과 속도( $J_s$ )를 보면 Brij® 56에서  $21.0 \pm 2.0 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ 로서

**Table II** – Permeation parameters of lincomycin cream with various surfactants and contents of ethanol

Preparations	Permeation parameters		
	$J_s$ ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr}$ )	$T_L$ (hour)	P ( $\times 10^{-3}$ , cm/hr)
A	10.8±1.5	1.42±0.08	0.52±0.007
B	16.1±1.1	1.56±0.04	0.78±0.006
C	21.0±2.0	1.57±0.10	1.01±0.010
D	31.8±1.8	1.64±0.05	1.60±0.050
E	40.0±3.6	1.64±0.07	1.93±0.001

Each value represents the mean±S.D. (n=3).  $J_s$ : flux, P: permeability coefficient (skin/vehicle),  $T_L$ : lag time. D; Brij® 56 + Ethanol 15%, E; Brij® 56 + Ethanol 30%.

가장 빠른 흡수양상을 보여주었고, Labrasol<sup>®</sup> 및 Tween<sup>®</sup> 20의 경우 각각  $10.8 \pm 1.5 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ ,  $16.1 \pm 1.1 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ 로 나타났다. Lag time은 모든 처방에서 1.42~1.57 hr로 유사하게 나타났다. 피부를 통한 약물의 확산계수를 비교해 보면 Brij<sup>®</sup> 56에서  $1.01 \pm 0.010 \text{ cm}/\text{hr}$ 로 가장 좋은 성적을 보여주었고, Labrasol<sup>®</sup>은  $0.52 \pm 0.007 \text{ cm}/\text{hr}$ 로 가장 낮게 나타났다(Table II).

**에탄올의 농도에 따른 피부투과**

에탄올은 피부의 성질을 변화시켜 약물 분자를 피부에 좀 더 용이하게 통과할 수 있게 하는 피부 투과 촉진제로 알려져 있다.<sup>11)</sup> 에탄올을 용매로 사용하였을 경우에 levonorgestrel, estradiol, hydrocortisone, 5-fluorouracil의 경피흡수를 6~40배 까지 증가시키는 것으로 보고되어 있으며,<sup>17)</sup> Dideoxynucleoside 약물의 경피흡수 실험에서 ethanol-tricaprylin 혼합액에 oleic acid를 넣었을 때는 이들 약물의 경피 흡수가 별로 증가하지 않았으나 ethanol-water 혼합액에 넣었을 때 훨씬 증가하는 것으로 알려져 있다.<sup>18)</sup> 특히 에탄올-물 혼합액과 올레인산의 조합은 수용성 약물뿐만 아니라 지용성 약물의 경피 흡수도 증가시키므로 효용성이 높다.<sup>19)</sup> 에탄올과 물의 혼합비율을 살펴보면 에탄올 70% 이하에서는 에탄올의 비율이 증가할수록 약물의 흡수 속도가 증가하지만 에탄올의 비율이 70% 이상이 되면 흡수속도가 오히려 감소하는 것으로 알려져 있다.<sup>18)</sup> 본 실험에서 계면활성제로 Brij<sup>®</sup> 56과 각각 15%, 30%의 에탄올을 함유하는 크림의 피부투과 실험결과를 비교할 때 실험 10시간 후 약물 투과량은 15% 에탄올을 함유한 경우  $744.6 \pm 43.7 \mu\text{g}/\text{m}^2$ 였고, 30% 에탄올을 함유한 경우는  $957 \pm 52.3 \mu\text{g}/\text{m}^2$ 로 나타나 Brij<sup>®</sup> 56만 사용한 것에 비하여 2배 정도 높아졌다. 한편 에탄올 함유 처방에서 피부투과량은  $39.2 \sim 43.1 \mu\text{g}/\text{m}^2$ 로 약간 상승되었다(Fig. 3, Table III).

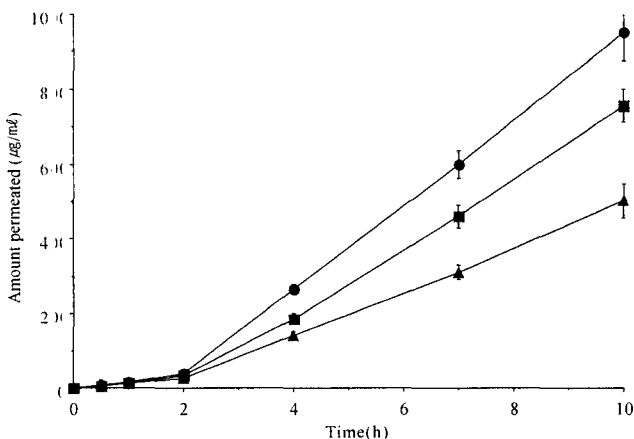


Fig. 3 - Permeation profiles of lincomycin from cream containing Brij 56<sup>®</sup> under various ethanol concentration (n=3). Key : ▲; Ethanol 0%, ■; Ethanol 15%, ●; Ethanol 30%.

Table III - Skin permeation parameters of lincomycin cream with various surfactants and contents of ethanol in hairless mouth skin after 10 hours

Preparations	Amount penetrated (µg/ml)	Amount localized (µg/ml)	Total amount penetrated (µg/ml)
A	232.2±32.0	31.7±3.0	263.9±33.7
B	351.4±22.7	34.8±4.2	386.2±26.7
C	463.7±40.3	37.7±4.4	501.4±45.0*
D	705.4±23.7	39.2±3.8	744.6±43.7
E	913.9±51.6	43.1±5.2	957.0±52.3**

Each value represents the mean ± S.D. (n=3).  
 \*Significantly different p<0.05 from Labrasol<sup>®</sup>.  
 \*\*Significantly different p<0.05 from Brij<sup>®</sup> 56.

**결론**

기미 치료제로서 수용성 약물인 린코마이신 크림을 제조하고 함유된 계면활성제의 피부투과 특성 및 안정성을 시험한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 처방에 의해 제조된 크림은 모든 처방에서 백색의 안정한 형태였으며 점도는 Brij<sup>®</sup> 56에서 6,000 cps로 가장 높았다.
2. 피부투과도는 Brij<sup>®</sup> 56을 사용한 처방에서 가장 우수한 성적을 나타내었으며 Tween<sup>®</sup> 20, Labrasol<sup>®</sup> 순으로 감소하였다.
3. 피부잔류량은 모든 처방에서 31.7~37.7 µg/ml 정도로 별 차이가 없었으며 에탄올 함유 처방에서는 39.2~43.1 µg/ml로 약간 높아졌다.
4. 에탄올을 함유한 처방의 피부투과도는 30% 에탄올 함유 처방에서 957±52.3 µg/m<sup>2</sup>로 Brij<sup>®</sup> 56 단독처방에 비하여 2배 정도 높아졌다.

이상의 실험결과에서 기미치료제로서의 린코마이신을 microemulsion 및 Brij 56<sup>®</sup>을 함유한 크림을 제조함으로써 피부투과 속도를 증가시킬 수 있으며 실온에서 장기 보존 시에도 안정성을 확보할 수 있어 제제로의 개발 가능성이 있으리라고 사료된다.

**감사의 말씀**

이 논문은 우석대학교의 학술연구비에 의하여 연구되었으며 이에 감사드립니다.

**문헌**

- 1) Kroon, A. M. and Van der Bogert, C. : Antibacterial drugs and their interference with the biogenesis of mitochondria in animal and human cells. *Pharmacol. Weekbl. Sci.* 5, 81 (1983).
- 2) Illel, B., Schaefer, H., Wepierre, J. and Doucet, O. : Follicles play an important role in percutaneous absorption. *J. Pharm.*

- Sci.* **80**, 424 (1991).
- 3) Williams, A. C. and Barry, B. W. : Skin absorption enhancers. *Crit. Rev. Ther. Drug Carr. Sys.* **9**(3), 305 (1992).
  - 4) Koerner, A. M. and Pawelek, J. M. : Mammalian tyrosinase catalyzer three reaction in the biosynthesis of melanin. *Science* **217**, 1163 (1982).
  - 5) Kobayashi, T., Urabe, K., Winder, A., Jimenez-Cervantes, C., Imokawa, G., Brewington, T., Solano, F., Garcia-Borrón, J. C. and Hearing, V. J. : Tyrosinase related protein 1 (TRP1) functions as a DHICA oxidase in melanin biosynthesis. *EMBO J.* **13**, 5818 (1994).
  - 6) Tsukamoto, K., Jackson, I. J., Urabe, K., Montague P. M. and Hearing, V. J. : A second tyrosinase-related protein, TRP-2, is a melanogenic enzyme termed dopachrome tautomerase. *EMBO J.* **11**, 519 (1992).
  - 7) Kim, D. G., Kim, H. Y., Kim, M. Y., Lee, M. Y. and You, K. R. : Lincomycin abrogates bexamethasone-enhanced melanogenesis in B16 melanoma cells. *Pigment Cell Res.* **11**, 143 (1998).
  - 8) Zahner, H. and Maas, W. K. : Biology of antibiotics, Springer-Verlag, New York and Berlin, 125 (1972).
  - 9) Di Giambattisata, M., Engelborghs, Y., Nyssen, E. and Cocito, C. : Kinetics of binding of macrolide, lincosamide and synergimycins to ribosomes. *J. Biol. Chem.* **262**, 8591 (1987).
  - 10) Morno, R. E., Fernandez-Munoz, R., Celma, M. L. and Vazquez, D. : Mode of action of lincosamycin and related antibiotics. Drug Resistance in Bacteria 1. Macrolide Antibiotics and Lincomycin. University Park Press, Baltimore, 305 (1971).
  - 11) Kam, S. H., Park, E. S. and Chi, S. C. : Skin permeation of indomethacin from gel. *J. Kor. Pharm. Sci.* **25**(2), 129 (1995).
  - 12) Tojo, K., Chiang, C. C. and Chien, Y. W. : Drug penetration across the skin; Effect of penetration hydrophilicity. *J. Pharm. Sci.* **76**(2), 123 (1987).
  - 13) Valchou, M. D., Rekkas, D. M., Dallas, P. P. and Choulis, N. H. : Development and in vitro evaluation of griseofulvin gels using Franz diffusion cells. *Int. J. Pharm.* **82**, 47 (1992).
  - 14) Ansel, H. C. : Transdermal drug delivery system; In Pharmaceutical dosage forms and drug delivery systems, Williams & Wilkins, New York, 362 (1994).
  - 15) Lee, S. K., Woo, H. S., Lee, Y. H. and Kwon, Y. N. : Skin Penetration and Localization characteristics of Lipogel containing Ascorbyl Palmitate. *J. Kor. Pharm. Sci.* **31**(4), 225 (2001).
  - 16) Barry, B. W. : Mode of action of penetration enhancers in human skin. *J. Controlled Release* **6**, 85 (1987).
  - 17) Friend, D. R., Catz, P. and Heller, J. : Transdermal permeation enhancers for drugs. *Proc. Int. Symp. Controlled Release Bioactive Mater* **15**, 152 (1988).
  - 18) Kim, D. D. and Chien, Y. C. : Transdermal delivery of dideoxynucleoside-type anti-HIV drugs: 2. The effect of vehicle and enhancer on skin permeation. *J. Pharm. Sci.* **85**, 214 (1996).
  - 19) Kim, D. D., Kim, J. L. and Chien, Y. W. : Mutual hairless rat skin permeation-enhancing effect of ethanol-water system and oleic acid. *J. Pharm. Sci.* **85**, 1191 (1996).