

## Franz Diffusion Cell을 이용한 인진호 함유 경피제의 피부투과 특성 연구

김은남<sup>1</sup> · 박교현<sup>2</sup> · 김배환<sup>2</sup> · 정길생<sup>1\*</sup>  
<sup>1</sup>계명대학교 약학대학, <sup>2</sup>계명대학교 자연과학대학

## Permeation Characteristics of Transdermal Preparations Containing Artemisiae Capillaris Herba in Franz Diffusion Cell

Eun-Nam Kim<sup>1</sup>, Kyo-Hyun Park<sup>2</sup>, Bae-Hwan Kim<sup>2</sup>, and Gil-Saeng Jeong<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>College of Pharmacy, Keimyung University, 1095 Dalgubeol-daero, Daegu 42601, Korea

<sup>2</sup>College of Natural Sciences, Keimyung University, 1095 Dalgubeol-daero, Daegu 42601, Korea

**Abstract** – Artemisiae Capillaris Herba is a dried aerial part of *Asteraceae capillaris* Thunb.(Compositae), which has been used in Korean traditional medicine for the treatment of various diseases. It has a variety of pharmacological activities and has been evaluated for potential as an active ingredient in cosmeceutical products. In the cosmetics industry, animal experiments is besides the major concern of ethics, there are few more disadvantages of animal experimentation like demand of skilled manpower, time consuming protocols and high cost. Therefore, various alternatives to animal experiments have been proposed. The purpose of this study was to investigate the skin permeation characteristics of chlorogenic acid and dimethyleculetin, which are constituent of Artemisiae Capillaris Herba by using Franz diffusion cell. As a result, skin permeability was characterized by flux(penetration rates) and  $K_p$ (permeability coefficient) value, chlorogenic acid had lower flux and  $K_p$  than dimethyleculetin. According to the definitions of Marzulli, chlorogenic acid and dimethyleculetin would be classified as ‘Moderate’ and ‘Very fast’ respectively. In conclusion, skin permeation characteristics of chlorogenic acid and dimethyleculetin were confirmed through Franz diffusion cell, and suggests the direction of alternative method for skin permeation of natural compounds.

**Keywords** – Artemisiae Capillaris Herba, Franz diffusion cell, Hairless mouse full skin, Flux,  $K_p$

인진호(*Artemisiae Capillaris Herba*)는 사철쭉의 다년생 초본으로 초롱꽃목 국화과(Compositae)의 여러해살이풀이며, 예로부터 한방과 민간에서 간 질환에 탁월한 효과로 간경변, 황달 등 주로 간장질환에 사용됐다. 인진호에 대한 성분연구로는 정유성분과 6,7-dimethylether 등의 coumarin류, flavonoid류와 chromone류, caffeic acid 등의 성분을 함유하고 있으며, 수분이 81.4%로 대부분을 차지하고, 단백질 5.2%, 지질 0.8%, 당질 4.0%, 섬유질 3.7%, 회분 2.7%와 칼슘, 인, 철 등으로 구성되어 있다.<sup>1,2)</sup> 또한 여러 연구에서 인진호 추출물은 항산화 및 항염증 효과, 알레르기성 피부염 등 다양한 약리 활성을 가지고 있는 것으로 보고되었다.<sup>3,4)</sup>

신체에서 피부는 외부환경에 직접적으로 접하고 있으며,

외부환경의 자극으로부터 장벽 역할을 한다.<sup>5,6)</sup> 피부는 일상 생활에서 의약품, 화장품, 산업용품 등 여러 화학물질에 노출되어 있으며, 이러한 문제는 건강에 유해한 결과를 가져올 수 있다.<sup>7)</sup> 이러한 문제로 피부흡수 연구는 약물개발과 일상생활용품 개발의 과정에서 필요한 연구이다.<sup>8,9)</sup> 진피와 경피로의 약물전달은 일차 신진대사 과정의 회피와 약물 부작용 및 독성 감소의 이점으로 다른 투여 경로와 비교하여 많은 이점이 있다.<sup>10)</sup> 경피흡수는 복잡한 물리화학적 및 생물학적 과정이며, 인간의 신체 내로의 약물 전달의 이해와 예측을 위해 *in vitro*와 *in vivo*에서 피부 흡수를 측정하기 위한 많은 실험 방법이 사용되어왔다.<sup>11)</sup> 그러나 화장품 산업에서 동물실험에 대한 윤리적 개념이 강화되어 2009년 EU 연합을 중심으로 동물실험 전면 금지에 대한 규정이 전세계적으로 확산되고 있는 추세이다.<sup>12)</sup> 이에 따라 여러 동물실험 대체시험법이 개발되고 있다. 실험동물의 희생을 최

\*교신저자(E-mail): gsjeong@kmu.ac.kr  
(Tel): +82-53-580-6649

소화하는 대체시험법인 Franz diffusion cell method는 *in vitro*에서 피부흡수를 측정하여 약물의 투과특성을 평가할 수 있는 시험법으로, 시험물질의 반복 측정이 가능한 장점이 있다.<sup>13)</sup> 본 연구에서는 OECD guideline 428에 제시된 Franz method에 따라 Franz diffusion cell을 이용하여 인진호를 함유한 경피제의 성분 중 chlorogenic acid와 dimethylesculetin의 시간에 따른 피부투과 여부와 함량을 HPLC-UV로 분석하여 인진호를 함유한 경피제의 피부 투과특성을 평가하였다.

### 재료 및 방법

**실험 재료** - 피부흡수 시험물질은 한국코러스(주)에서 제공한 경피제(HKP201)를 사용하였다(LOT: LT001-30 g). HPLC 분석을 위한 시약으로 chlorogenic acid, dimethylesculetin의 표준품과 formic acid는 sigma aldrich사의 제품을 사용하였으며, acetonitrile과 ethanol, water는 Fisher사의 HPLC grade를 사용하였다.

**HPLC 분석** - Franz diffusion cell로부터 얻은 시료를 분석하기 위한 HPLC 분석 조건은 Table I에 요약하였다. HPLC 분석에서 칼럼은 HECTOR C18(4.6×300 mm, 5 μm, RS tech, Korea)을 사용하였고, HPLC 장비는 Waters(USA)사의 Waters 2695 Alliance system을 사용하였다. 이동상(A)는 0.1% formic acid가 첨가된 water를 이동상(B)는 0.1% formic acid가 첨가된 acetonitrile을 사용하였으며 모든 용매는 사용 전 탈기하여 사용하였다. 칼럼의 유속은 1.0 ml/min이었으며 분석 시간은 0에서 12분까지 이동상(B)를 10%에서 12%로 용리하였고, 12분에서 17분까지 이동상(B)를 16%가 되도록 한 다음, 17분에서 40분까지 이동상(B)를 25%로 유지하고, 40분에서 50분까지 이동상(B)를 38%가 되도록 한 다음, 50분에서 70분까지 이동상(B)를 10%로 유지하면서 초기 용매 조건으로 조정하였다. UV검출기의 파장은 기존에 보고된 문헌에 따라 chlorogenic acid와 dimethylesculetin이 모두 검출되는 330 nm를 선택하였고<sup>14,15)</sup> 시료는 10 μl를 주입하였다.

**Table I.** Analytical condition of HPLC for chlorogenic acid and dimethylesculetin

Parameter		Condition	
Column	HECTOR C18 (4.6×300 mm, 5 μm)		
Flow rate	1.0 ml/min		
Injection volume	10 μl		
UV detection	330 nm		
Run time	70 min		
Final time (min)	Flow rate (ml/min)	Solvent	
		A(%)	B(%)
0	1.00	90	10
12	1.00	88	12
17	1.00	84	16
40	1.00	75	25
50	1.00	62	38
70	1.00	90	10

**실험동물 및 피부 종류 준비** - Hairless mouse full skin (약 0.23 mm)을 얻기 위해 7주령의 수컷 hairless mouse를 (주)오리엔트 바이오(Korea)로부터 분양 받아 1주간 온도 22 ±3°C, 습도 50±5%, 명암주기 12시간 밤과 낮 단위로 조절되는 표준사육시설에서 적응시킨 후 희생하여 등에서 배 부위까지의 피부를 적출한 다음 피하지방 및 혈관을 제거하였다. 적출한 피부는 영하 20°C에서 보관하였으며 피부적출은 계명대학교 동물실험윤리위원회의 승인(KM-2017-006) 후 진행되었다.

**피부흡수 노출 실험 및 시료채취 방법** - 피부흡수 노출 실험은 Franz method에 따른 static diffusion cell 형태의 Franz diffusion cell을 사용하여 진행하였다(Fig. 1A), (Fig. 1B). Franz diffusion cell 장치의 내경은 10 mm이며, 적출한 hairless mouse full skin은 receptor chamber 위에 피부의 각질층을 위로 향하도록 올려놓았다. 그 후 donor chamber를 각질층 위에 올리고 Franz diffusion cell의 하단 부위에는 receptor fluid인 ethanol/water(1:1, v/v) 5 ml를 채



**Fig. 1.** A typical design example of a static type diffusion cell (A), Franz diffusion cell (B) and Hairless mouse full skin (C).

있다. 실험 진행하는 동안 피부흡수장치와 피부 온도는  $32 \pm 1^\circ\text{C}$ , 습도는 30~70%로 유지하여 30분 간 안정화 후 진행하였다. 적출된 피부면적은  $0.79 \text{ cm}^2$ 이며(Fig. 1C), 위약군과 투여군 각각 4개의 적출된 피부로 진행하였다. 본 연구에서 사용된 receptor fluid는 시험물질이 잘 녹고 분석에 영향을 주지 않는 용액으로 ethanol/water(1:1, v/v)를 사용하였다. 각 실험군의 약물 도포는 receptor fluid인 ethanol/water(1:1, v/v)을 위약군에 도포하였고, 투여군에는 시료 10 mg을 피부 전체에 도포하였다. 투과된 시료에 마그네틱 바를 넣고 600 rpm을 유지하여 receptor fluid가 잘 혼합될 수 있게 하였다. 피부 내 실험물질의 잔류량 분석을 위해 처치 부위의 피부를 절제하여 초음파처리(1시간) 후 ethanol/water(1:1, v/v)을 이용하여 24시간 동안 물질을 추출시킨 후 원심 분리하여 상층액을 채취하였다. 채취된 샘플은 분석 전까지 영하  $80^\circ\text{C}$ 에 보관하였다.

**검액 및 표준용액의 조제** - 검액은 경피제(HKP201) 100 mg을 정밀하게 달아 메탄올 10 ml를 넣고 10분 동안 초음파 추출한다. 용해시킨 검액을 항온수조  $75 \pm 5^\circ\text{C}$ 에서 30분간 중탕시킨 후,  $0.45 \mu\text{m}$  syringe filter로 여과하여 검액으로 사용하였다. 표준용액은 chlorogenic acid 및 dimethylesculetin 표준품과 메탄올을 혼합하여 1 mg/ml의 농도로 혼합 후 검액과 동일한 방법으로 조제하였다.

**검량선 및 직선성** - 조제한 표준용액을 0.25, 0.5, 1, 5, 20, 50  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 계열희석하여 검량선을 작성하였다. 그 후 조제한 검액을 3회 반복하여 얻은 크로마토그램의 면적 값으로 계산된 회귀직선 방정식으로부터 chlorogenic acid 및 dimethylesculetin의 함량을 구하였다.

**피부흡수 함량분석 및 피부흡수 노출 자료 분석** - 경피제 도포 후 0, 1, 2, 4, 7, 10, 24 시간별 채취한 시료의 HPLC 크로마토그램 면적 값을 계산된 회귀직선 방정식에 대입하여 chlorogenic acid와 dimethylesculetin의 시간에 따른 투과량과 총 누적투과량의 함량을 나타내었다. 피부흡수 노출 시험의 결과를 해석하기 위한 수치로 Flux( $\mu\text{g/hr/cm}^2$ ) 값과  $K_p(\text{cm/hr})$  값으로 표현하였으며, 각 수치는 물질 고유

의 투과 특성을 의미하게 된다. 단위시간당 일정한 넓이로 피부를 투과하는 시료의 양을 계산한 Flux( $\mu\text{g/hr/cm}^2$ ) 값에서 물질의 초기 농도 값을 나눈 값으로 투과계수인  $K_p(\text{cm/hr})$  값을 산출하여 물질의 투과 특성을 분석하였다.

## 결과 및 고찰

각질층 표면에서 화학물질의 피부투과는 분배와 확산을 거쳐 각질층 이하로 다시 분배되며 표피와 진피를 지나 혈관으로 전달된다. 각질층은 친수성과 불투과성 막으로 구성되어 있으며, 다양한 수분함량의 차이는 화학물질의 용해도에 영향을 미치므로, 화학물질의 피부투과를 측정하는 것은 매우 어려운 일이다.<sup>16)</sup> 본 연구에서는 OECD guideline 428에 제시된 Franz method에 따라 Franz diffusion cell을 사용하여 인진호를 함유한 천연물 경피제 HKP201 내 chlorogenic acid와 dimethylesculetin의 시간에 따른 피부흡수투과 특성을 알아보고자 하였다. Chlorogenic acid와 dimethylesculetin의 함량을 분석하기 위해 표준품과 메탄올을 혼합하여 1 mg/ml의 농도로 조제 후 계열희석하여 분석하였으며(Fig. 2), chlorogenic acid와 dimethylesculetin은 0.25~50  $\mu\text{g/ml}$ 의 범위에서 상관계수( $R^2$ ) 0.9978과 0.9981의 직선성을 보였다(Fig. 3), (Table II). 인진호를 함유하고 있는 경피제(HKP201)를 Franz diffusion cell에 도포하여 시간에 따른 chlorogenic acid와 dimethylesculetin의 투과 여부를 확인하기 위해 먼저 경피제(HKP201) 내 chlorogenic acid와 dimethylesculetin의 함량을 분석하였다. 그 결과 경피제(HKP201) 1 g당 chlorogenic acid는 평균 2.296 mg, dimethylesculetin은 평균 0.671 mg을 함유하고 있는 것으로 확인되었으며(Table III), chlorogenic acid와 dimethylesculetin 표준품과 retention time을 비교하여 각각 15.956분과 43.082분으로 확인되었다(Fig. 4). 피부투과를 위한 이상적인 약물은 친지질성과 친수성의 성질을 모두 가지고 있어야 하지만 극친수성인 분자인 경우 경피로 전달 될 수 없으며, 과도한 친지질성 분자인 경우는 경피층에 잔류하는 경향이 있다. 그러나 각질

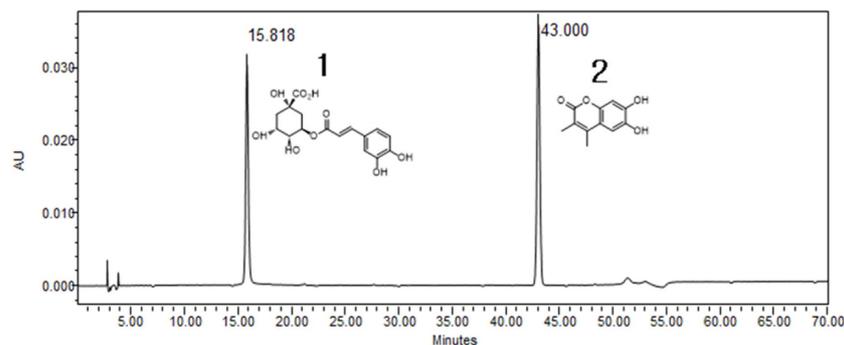


Fig. 2. HPLC chromatograms of chlorogenic acid (1) and dimethylesculetin (2).

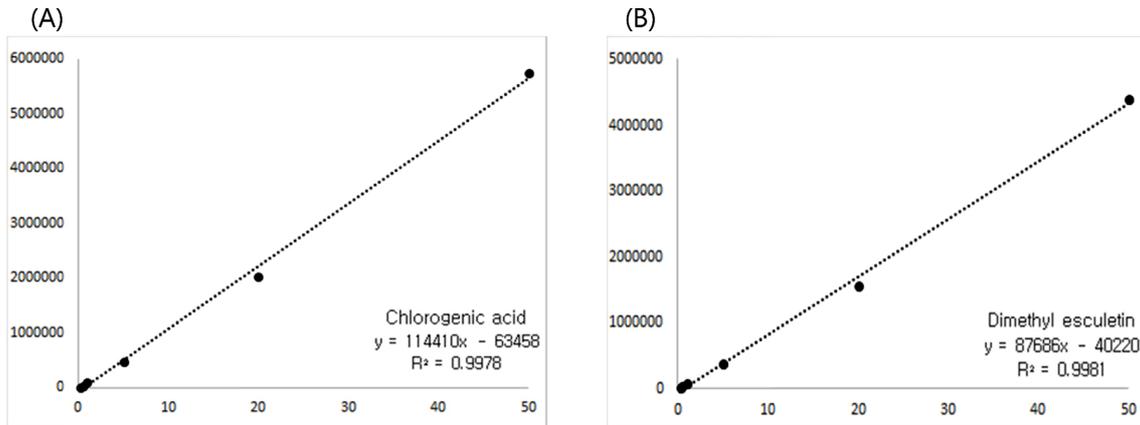


Fig. 3. Calibration curve of chlorogenic acid (A) and dimethylesculetin (B) standard solution.

Table II. Calibration curve, linearity of chlorogenic acid and dimethylesculetin

Compounds	Linear range (µg/ml)	Linear regression equation	R <sup>2</sup>
Chlorogenic acid	0.25~50	y = 114410x - 63458	0.9978
Dimethyl esculetin	0.25~50	y = 87686x - 40220	0.9981

Table III. The average content of chlorogenic acid and dimethylesculetin in HKP201 (n=4)

Compound	1 set	2 set	3 set	4 set	Mean (mg/g)	S.D (mg/g)
Chlorogenic acid	2.280	2.210	2.330	2.363	2.296	0.067
Dimethylesculetin	0.658	0.644	0.689	0.693	0.671	0.024

층의 지질의 양과 지질층의 두께로 인해 상대적인 피부 투과율은 친지질성 물질이 수용성 물질보다 높다고 알려져 있다.<sup>17)</sup> 경피제(HKP201)를 도포한 시험군과 receptor fluid (ethanol/water(1:1))를 도포한 위약군의 크로마토그램에서 시험군은 chlorogenic acid가 10시간부터 피부투과가 이루어졌으며, dimethylesculetin은 1시간부터 투과된 것으로 보여진다(Table IV). 위약군에서는 chlorogenic acid와 dimethylesculetin은 검출되지 않았다(Fig. 5). Chlorogenic acid와 dimethylesculetin의 누적투과량은 시간에 따라 증가됨을 확인할 수 있었다(Table V). 물질의 피부투과성은 Flux

와 투과계수 Kp값에 의해 특징지어질 수 있으며, 피부투과 속도를 나타내는 Flux(µg/hr/cm<sup>2</sup>) 값과 물질의 침투 속도를 나타내는 Kp(cm/hr) 값은 물질의 투과 특성을 의미한다.<sup>18,19)</sup> 경피제(HKP201)를 도포한 시험군에서 chlorogenic acid의 Flux값은 0.37이며 dimethylesculetin은 27.23으로 dimethylesculetin이 약 73배 투과량이 많은 것으로 보여지며, 투과계수 Kp 값은 chlorogenic acid가 1.60, dimethylesculetin이 405.83으로 dimethylesculetin이 chlorogenic acid보다 253배 빠르게 투과하는 것으로 보여진다(Table VI). 또한 계산된 Kp 값을 적용하여 Marzulli의 정의에<sup>20)</sup> 따라

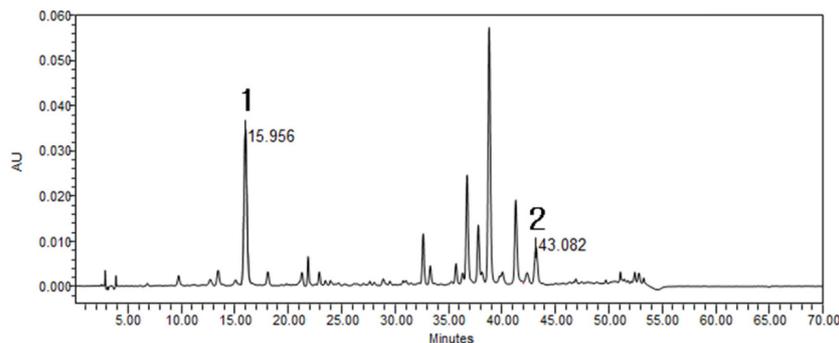


Fig. 4. HPLC Chromatogram of chlorogenic acid (1) and dimethylesculetin (2) in HKP201.

**Table IV.** Amount of skin-permeated chlorogenic acid and dimethylesculetin

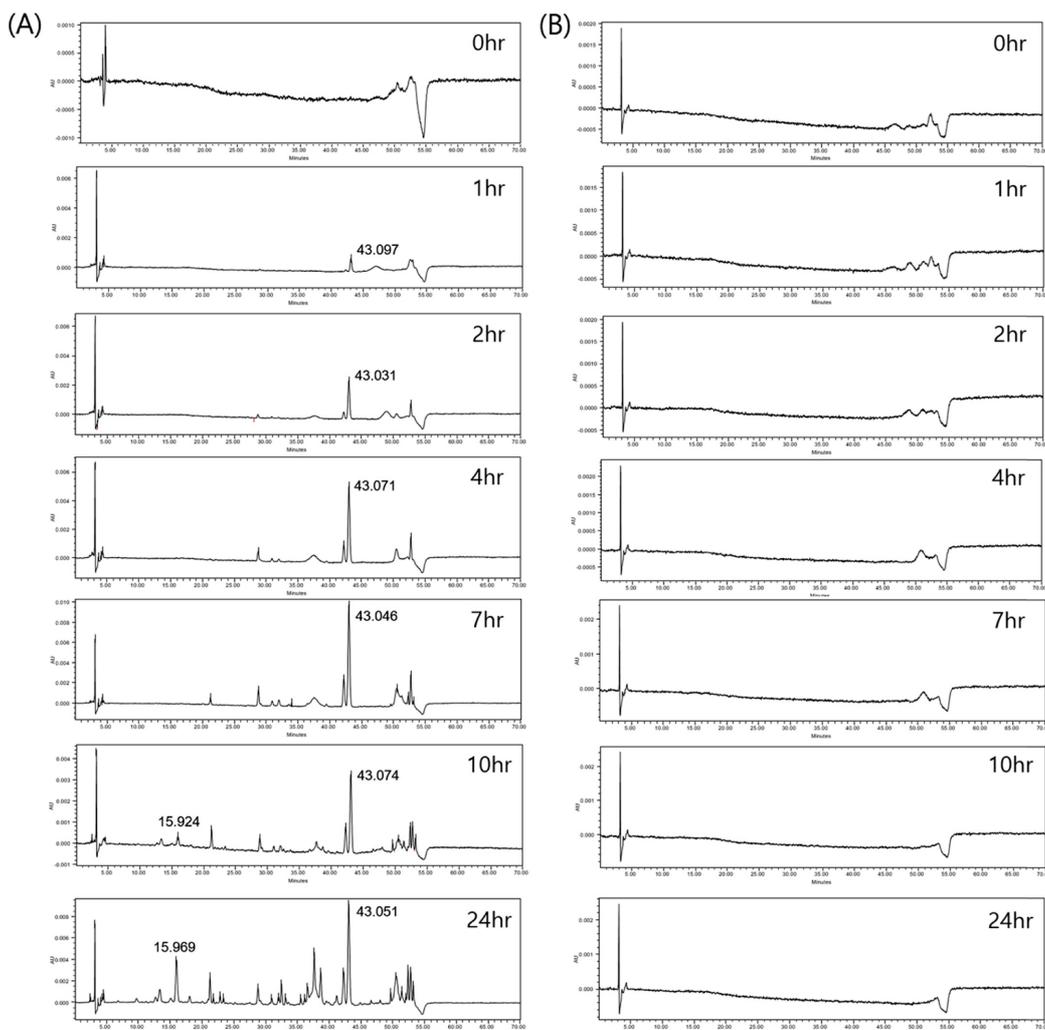
mg/g		0 hr	1 hr	2 hr	4 hr	7 hr	10 hr	24 hr
Chlorogenic acid	Mean	ND	ND	ND	ND	ND	0.0009	0.0066
	S.D	ND	ND	ND	ND	ND	0.0005	0.0049
Dimethyl esculetin	Mean	ND	0.0038	0.0115	0.0214	0.0237	0.0241	0.0208
	S.D	ND	0.0014	0.0073	0.0078	0.0140	0.0114	0.0141

ND: not detected ( $n=4$ )

**Table V.** Cumulative amount of skin-permeated chlorogenic acid and dimethylesculetin

$\mu\text{g}/\text{cm}^2$		0 hr	1 hr	2 hr	4 hr	7 hr	10 hr	24 hr
Chlorogenic acid	Mean	ND	ND	ND	ND	ND	4.30	42.74
	S.D	ND	ND	ND	ND	ND	3.87	31.48
Dimethyl esculetin	Mean	ND	24.36	77.80	155.61	197.48	230.03	240.13
	S.D	ND	8.77	46.13	55.61	98.50	97.34	130.37

ND: not detected ( $n=4$ )

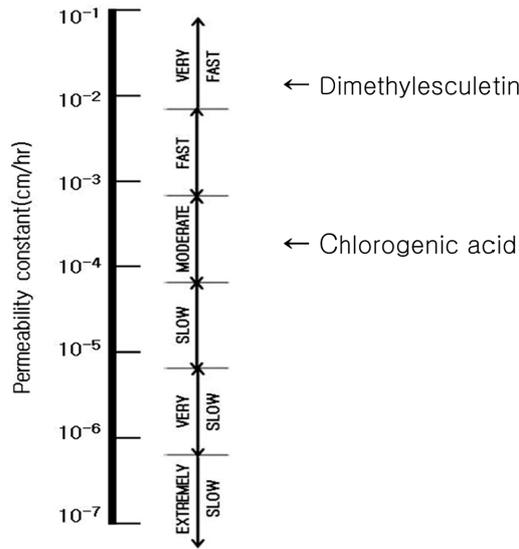


**Fig. 5.** HPLC chromatogram of chlorogenic acid and dimethylesculetin permeated over time. The experimental group (A), the control group (B).

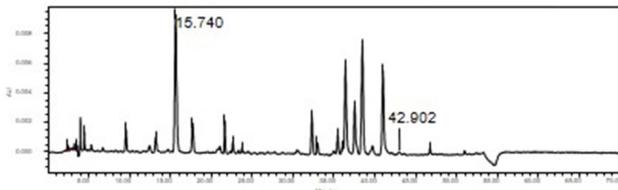
**Table VI.** Permeability rates and coefficients of compounds following the skin exposure of hairless mouse ( $n=4$ )

	Flux ( $\mu\text{g/hr}\cdot\text{cm}^2$ )	$K_p$ ( $\text{cm/hr}\cdot 10^{-4}$ )
Chlorogenic acid	0.37±0.71	1.60±3.11
Dimethyl esculetin	27.23±10.92	405.83±162.73

Values represent the mean ± SD of four independent measurements.



**Fig. 6.** The permeability coefficient ( $K_p$ ) of test substances through hairless mouse full skin.



**Fig. 7.** HPLC chromatogram of residual quantity chlorogenic acid and dimethylesculetin in skin of hairless mouse.

투과 정도를 판단하였을 때 chlorogenic acid는 ‘Moderate’, dimethylesculetin는 ‘Very fast’ 정도로 투과하는 것으로 표현될 수 있다(Fig. 6). 피부 내 chlorogenic acid와 dimethylesculetin의 잔류량을 분석한 결과 chlorogenic acid는 576  $\mu\text{g/g}$ 으로 피부 내 높은 잔류량을 보였으며 dimethylesculetin의 경우 2.02  $\mu\text{g/g}$ 으로 chlorogenic acid 대비 낮은 잔류량을 나타내었다(Fig. 7), (Table VII). 이전의 보고된 porcine skin 을 이용한 Franz diffusion cells에서 chlorogenic acid는 caffeic acids에 비해 약간 우수한 경피흡수를 나타냈으며, 72시간까지 흡수가 이루어졌다<sup>21)</sup>. 본 결과에서 chlorogenic acid는 10시간부터 흡수가 이루어 졌으며, 피부 내 잔류량이 dimethylesculetin에 비해 높았다. 따라서 chlorogenic

**Table VII.** Analysis of residual quantity chlorogenic acid and dimethylesculetin in skin of hairless mouse ( $n=4$ )

	Area	Residual amount ( $\mu\text{g/g}$ )
Chlorogenic acid	2285	576
Dimethyl esculetin	143936	2.02

acid는 추후 시간이 지남에 따라 피부투과량이 증가할 것으로 판단되고 반대로 피부 내 잔류량이 낮은 dimethylesculetin의 경우 chlorogenic acid에 비해 상대적으로 높은 피부 투과율을 보이는 것으로 나타났다.

### 결론

본 연구에서 피부흡수 대체시험법을 통해 인진호를 함유한 경피제(HKP201) 내 성분인 chlorogenic acid와 dimethylesculetin의 흡수여부와 피부투과 특성을 확인할 수 있었다. 인진호가 함유되지 않은 위약군에서는 chlorogenic acid와 dimethylesculetin이 검출되지 않았으며, 인진호가 함유된 경피제(HKP201)를 도포한 실험군에서 chlorogenic acid는 10시간부터 피부투과가 이루어지며, dimethylesculetin은 1시간부터 투과된 것으로 보여진다. 이러한 결과로 피부 내 dimethylesculetin의 잔류량이 chlorogenic acid 대비 낮음을 확인할 수 있다. 피부 내 잔류량이 낮은 dimethylesculetin의 높은 경우 피부 투과율을 보였으므로 상대적으로 피부 내 잔류는 적은 것으로 판단되며, 잔류량이 높고 투과량이 적은 chlorogenic acid는 추후 시간이 지남에 따라 피부를 통과할 것으로 판단된다. 본 시험법을 통해 추후에 있을 천연물 유래 성분의 피부흡수 대체시험법 조건 확립에 기여할 것으로 기대된다.

### 사사

이 논문은 2017년도 정부(산업통상자원부)의 재원으로 한국산업기술진흥원-경제협력관 산업육성사업의 지원을 받아 수행된 연구이다(No.R0004543).

### 인용문헌

1. Lee, C. K and Seo, J. J. (2003) Antimicrobial activity of the aerial part of *Artemisia capillaries* extracts on the food-borne pathogens. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **32**: 1227-1232.
2. Seo, Y. S., Lee, E and Cha, Y. Y. (2010) Anti-inflammatory effect of *Artemisia capillaris* Thunberg in lipopolysaccharide-exposed rats. *J. Oriental Rehab. Med.* **20**: 27-35.
3. Kim, J. M., Shin, Y. K., Kim, B. O., Kim, J. K., Lee, S. H and Kim, Y. S. (2012) Effect of *Artemisia capillaris* extracts on

- antioxidant activity and allergic dermatitis. *J. Life Sci.* **22**: 958-963.
4. Kim, J. S. and Kim, K. L. (2015) Anti-oxidative and anti-inflammatory effects of *Artemisiae Capillaris* extract. *Kor. J. Aesthet. Cosmetol.* **6**: 805-812.
  5. Simon, G. A. and Maibach, H. I. (2000) The pig as an experimental animal model of percutaneous permeation in man: qualitative and quantitative observations-an overview. *Skin Pharmacol. Appl. Skin Physiol.* **13**: 229-234.
  6. Elias, P. M., Feingold, K. R. and Fluhr, J. W. (2003) Fitzpatrick's dermatology in general medicine. 6th ed. New York: McGraw-Hill.
  7. Scientific Committee on Cosmetic Products and Non-Food Products (SCCNFP). Available:[http://ec.europa.eu/health/ph\\_risk/committees/sccp/documents/out231\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/sccp/documents/out231_en.pdf)[accessed 25 February 2016].
  8. Fritz, P. S., Josef, G. M. and Andreas, B. (2001) Comparison of human skin or epidermis models with human and animal skin in *in vitro* percutaneous absorption. *Int. J. Pharm.* **215**: 51-56.
  9. Ackermann, K., Lombardi Borgia, S., Korting, H. C., Mewes, K. R. and Schafe-Korting, M. (2010) The phenion full-thickness skin model for percutaneous absorption testing. *Skin Pharmacol. Physiol.* **23**: 105-112.
  10. Barry, B. W. (1983) In: Dermatological formulations. Drugs and the Pharmaceutical Sciences. Percutaneous Absorption. Swarbrick, J. Ed.; Marcel Dekker: New York. **18**: 95-116.
  11. Venter, J. P., Muller, D. G., Plessis, J. D. and Goosen, C. (2001) A comparative study of an *in situ* adapted diffusion cell and an *in vitro* Franz diffusion cell method for transdermal absorption of doxylamine. *Eur. J. Pharm. Sci.* **13**: 169-177.
  12. Robinson, M. K., Cohen, C., A. Fraissinet, D. B. de., Ponec, M., Whittle, E. and Fenteme, J. H. (2002) Non-animal testing strategies for assessment of the skin corrosion and skin irritation potential of ingredients and finished products. *Food Chem. Toxicol.* **40**: 573-592.
  13. OECD. OECD guideline for the testing of chemicals, 2004; NO. 428: Skin absorption: *in vitro* method.
  14. Craig, A. Paula., Fields, C., Liang, N., Kitts, D. and Erickson, A. (2016) Performance review of a fast HPLC-UV method for the quantification of chlorogenic acids in green coffee bean extracts. *Talanta* **154**: 481-485.
  15. Zhang, A., Sun, H., Wang, X., Jiao, G. Z., Yuan, Y. and Sun, W. J. (2011) Simultaneous *in vivo* RP-HPLC-DAD quantification of multiple-component and drug-drug interaction by pharmacokinetics, using 6,7-dimethylesculetin, geniposide and rhein as examples. *Biomed. Chromatogr.* **26**: 844-50.
  16. Jung, D. C., Yoon, C. H., Um, M. S., Hwang, H. S., Baek, J. H. and Choi, J. H. (2013) Characteristics of percutaneous absorption for three kinds of phthalate. *J. Environ. Health Sci.* **39**: 360-368.
  17. Naik, A., Kalia, Y. N. and Richard, H. G. (2000) Transdermal drug delivery: overcoming the skin's barrier function. PSTT Vol. 3, No. 9.
  18. Anderson, B. D., Higuchi, W. I. and Raykar, P. V. (1988) Heterogeneity effects on permeability-partition coefficient relationships in human stratum corneum. *Pharm. Res.* **5**: 566-73
  19. Kruse, J., Golden, D., Wilkinson, S., Williams, F., Kezic, S. and Corish, J. (2007) Analysis, interpretation, and extrapolation of dermal permeation data using diffusion-based mathematical models. *J. Pharm. Sci.* **96**: 682-703.
  20. Barber, E. D., Hill, T. and Schum, D. B. (1995) The percutaneous absorption of hydroquinone (HQ) through rat and human skin *in vitro*. *Toxicolo. Lett.* **80**: 167-172.
  21. Marti, Mestres, G., Mestres, J. P., Bres, J., Martin, S., Ramosc, J. and Viana, L. (2007) The "in vitro" percutaneous penetration of three antioxidant compounds. *Int. J. Pharm.* **331**: 139-144.

(2018. 5. 31 접수; 2018. 6. 19 심사; 2018. 6. 23 게재확정)