

Anna Ruth A. Lopes¹, Maria de Lourdes S.Vargas¹, Áurea S.S. Cavalcanti² & Ary G. da Silva³

Plantas e seus extratos – administração e biodisponibilidade de fitoterápicos aplicados na pele.⁴

Plants and their extracts – administration and bioavailability of phytochemicals applied on the skin.

Resumo Diversas pesquisas têm sido desenvolvidas com o objetivo de avaliar a absorção dos fitoterápicos através da pele, devido à dificuldade de permeação destes fármacos que ocorrem freqüentemente nas plantas formando ânglicosídeos, bastante hidrossolúveis e com pouca expectativa de serem absorvidos. O uso de facilitadores de permeação cutânea tem sido proposto para intensificar a biodisponibilidade destes fármacos aplicados na pele. O sistema de administração cutânea tem a vantagem de evitar o efeito de primeira passagem, aumentando a biodisponibilidade dos fármacos na circulação sistêmica logo após absorção e a praticidade de aplicação em relação às outras formas farmacêuticas convencionais. Nesta pesquisa podemos observar o grande interesse do ramo da cosmetologia pelos fitoterápicos de aplicação na pele devido ao mercado promissor.

Palavras-chave permeação cutânea, fitofármacos, fitomedicamentos, fitocosméticos, biocosméticos.

Abstract Several researches have been developed to evaluate the absorption of phytochemicals throughout the skin, considering the hard permeation of those phytopharmakons that frequently occur as â-glucosides that are easily soluble in water, and therefore, showing few expectations of skin absorption. The use of permeation

enhancers has been proposed to intensify the bioavailability of those pharmacons applied on the skin. The percutaneous system of drug administration is useful to bypass the usual hepatic metabolism that happens after oral administration, what also contribute to enhancing the systemic bioavailability, and it is of easy application when compared to other conventional pharmaceuticals. We could observe in this research that there is a growing interest of Cosmetic Industry on applied properties of plant extracts, since it is an opened and valuable market.

Keywords skin permeation, phytochemicals; phytopharmakon; phytocosmetic, biocosmetic.

Introdução

A fitoterapia constitui um recurso terapêutico desde os primórdios da antigüidade até os nossos dias e seu uso vem crescendo notadamente nos últimos anos (Botsaris & Machado, 1999). Com o desenvolvimento científico e tecnológico e com o crescimento do uso dos produtos fitoterápicos, novas pesquisas têm sido desenvolvidas no intuito de desenvolver novas formas farmacêuticas dentro da fitoterapia (Ferreira, 2002).

Dentre estas formas pesquisadas estão as de uso externo aplicadas na pele, que vêm tendo uma boa aceitação por parte dos pacientes, aumentando a adesão aos tratamentos. As pesquisas desenvolvidas têm procurado melhorar a absorção dos fitoterápicos utilizando facilitadores de permeação cutânea (Ferreira, 2002).

As vantagens do uso de fitoterápicos aplicados na pele são várias. Há menor irritação e toxicidade sistêmica; há proteção contra a acidez do pH do estômago em relação aos fármacos sensíveis; evita o efeito de primeira passagem e possíveis interações dos fármacos com alimentos e com a microbiota intestinal; permite o controle de absorção e possibilidades de aplicação em diferentes locais (Ferreira, 2002).

Neste trabalho, tivemos como objetivo, reunir dados

1 Curso de Farmácia do Centro Universitário Vila Velha. Rua Comissário José Dantas de Melo, n°21 Boa Vista - Vila Velha, CEP 29102-770. carlosandrens@yahoo.com.br.

2 Professor Adjunto do curso de Farmácia do Centro Universitário Vila Velha (UVV). Rua Comissário José Dantas de Melo, n°21 Boa Vista - Vila Velha, CEP 29102-770. aurea@uvv.br

3 Professor Doutor I do curso de Farmácia do Centro Universitário Vila Velha (UVV). Rua Comissário José Dantas de Melo, n°21 Boa Vista - Vila Velha, CEP 29102-770. arygomes@uvv.br

4 Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação em Farmácia do Centro Universitário Vila Velha.

disponíveis na literatura científica sobre a administração de fitoterápicos através da pele e suas vantagens terapêuticas e cosméticas, evidenciando as demandas de novas pesquisas que conduzam a avanços na tecnologia farmacêutica aplicada à fitoterapia.

A organização da pele

Para compreendermos melhor como os fármacos atravessam a pele, faz-se necessário um conhecimento básico de sua organização (Ferreira, 2002). A pele desempenha várias funções no organismo, sendo sua função primária a de proteção, incluindo a manutenção de fluidos biológicos, balanço eletrolíticos e como termostato na manutenção da temperatura corporal, entre outros (Gartner & Hiatt, 2002; Prista, 1995).

Em relação a este tipo de proteção, estudos demonstram a capacidade de certos compostos atravessarem as camadas da pele, com velocidade controlada e atingirem os vasos sanguíneos e a circulação geral (Prista, 1995; Ferreira, 2002). Porém este trabalho estará enfatizando sua importância como uma via de administração, mostrando a sua capacidade de permitir a penetração de substâncias.

A pele é constituída de duas camadas, uma mais externa, a epiderme, e uma camada profunda de tecido conjuntivo, a derme (Gartner & Hiatt, 2002). Apenas a derme é um sistema de tecidos vascularizado. Um fármaco, quando administrado sobre a pele, torna-se disponível para a absorção na circulação sistêmica (Ansel et al., 2000).

A epiderme é composta por várias camadas, sendo a mais externa, o estrato córneo, que consiste em células compactadas, mortas, queratinizadas em camada estratificada; o conteúdo hídrico desta camada é relativamente pequeno, representando 7 a 40% da quantidade total de água da pele, e principalmente responsável pela determinação da permeabilidade de certas substâncias (Junqueira & Carneiro, 1999; Prista, 1995; Idson, 1985). Na camada dérmica, existe um número variável de folículos pilosos e glândulas sebáceas, juntamente com glândulas sudoríparas, apócrinas e écrinas, nutrido por uma grande rede vascular (Ferreira, 2002)

Modelos biológicos e químicos para estudo da permeação cutânea

Existem vários fatores intrínsecos da pele que afetam na absorção transcutânea. Entre eles, estão: a espessura

média da pele, que varia de 0.67 mm – pálpebras- até 4.4 mm - palma da mão e planta do pé (Junqueira & Carneiro, 1999); o seu pH que está na faixa de 5,5 a 7,0 (Rothman; 1954); a composição do estrato córneo, que é de 40% de proteína – queratina, 40% de água e 20% de lipídeos - triglicerídeos, ácidos graxos livres, colesterol e fosfolipídios (Ansel et al., 2000; Tregear, 1966); a restrição de polaridade que a pele apresenta, pois possui tanto características lipofílicas como hidrofílicas; o processo de renovação, pois as células da epiderme estão sendo constantemente renovadas a partir da camada basal, através da divisão celular; a idade, quanto mais envelhecida as células da pele, maior é a perda de suas funções (Remington, 2000); a irrigação sanguínea, pois em toda a pele, somente a derme é um sistema de tecidos vascularizado; e as diferenças de pele entre as várias regiões do corpo que estão correlacionadas com a espessura e o conteúdo lipídico do estrato córneo (Lachman, 2001).

Os experimentos realizados nos últimos dez anos têm estudado a permeação cutânea através testes *in vitro* (Bronaugh & Franz, 1986; Bronaugh & Stewart, 1986, Bonina et al., 1993) e testes *in vivo* (Bronaugh & Franz, 1986). Neles, a cafeína tem sido utilizada como padrão (Bonina, et al. 1993; Bader et al., 1992; Bucks et al., 1993) de um grupo de substâncias com características anfífilas, ou seja, que não são exclusivamente lipo e nem hidrossolúveis, mas que são permeáveis em um gradiente variável quanto àqueles caracteres.

Os ensaios *in vitro* têm utilizado pele artificial produzida em cultura, bem como fragmentos de pele humana, de rato “sem pelo” e de porco que, é o modelo experimental mais parecido com a pele humana. Os ensaios *in vivo*, utilizam os mesmos animais, inclusive o homem, e são avaliados pela determinação da cafeína assimilada através da determinação em HPLC, pela incorporação da cafeína marcada com ¹⁴C ou pela determinação quantitativa dos seus metabólitos na urina. (Amato et al., 1992).

A absorção cutânea da cafeína diminui com o envelhecimento da pele (Roskos, et al, 1989). Mesmo em bebês, esta absorção é inversamente proporcional ao grau de maturidade da pele (Amato et al., 1992).

Aspectos gerais da biodisponibilidade de fitoterápicos

Para os medicamentos fitoterápicos serem considerados efetivos, deles é esperado que possam atingir alguns padrões de qualidade que permitam produzir alguns indicadores para avaliar sua eficácia, segurança e atributos biofarmacêuticos, principalmente no que diz respeito à biodisponibilidade *in vivo* (Kressmann et al., 2002).

Muitos dos fitofármacos se apresentam glicosilados, formando ligações C- ou O-glicosídicas com algum a ou b-glicídio. A glicosilação é um aspecto importante quando se trata de fitofármacos, pois a probabilidade de seu aproveitamento é ser baixa, devido à dificuldade do organismo humano em hidrolisar esta ligação e também virtude deste não reconhecer a b-glicose (Robbers *et al.*, 1997).

Numa avaliação sobre a penetração na pele de triptantrina pura em solução ou dispersa no extrato de Isatis, foi aplicada uma microdiálise cutânea usando pele da coxa de porcos vivos como modelo. A microdiálise foi executada colocando sondas lineares na derme e as concentrações de triptantrina eram determinadas através da ionização de eletrospray de diluição isotópica, em cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas – LC-MS. Foram descobertas concentrações mensuráveis de triptantrina depois de trinta minutos de aplicação. Foi observado um aumento de dose dependente de concentrações de triptantrina no dialisado dos extratos de Isatis, mas não na solução de triptantrina pura, que cristalizou na solução, mas permaneceu em estado amorfo nos extratos (Obertur *et al.*, 2003).

A superfície epitelial contém antioxidantes que poderiam proteger a pele contra agressão ambiental causada por espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio. Foi previsto que um extrato alcóolico de folha de alecrim estivesse dotado de forte atividade antioxidante. O extrato de alecrim foi avaliado *in vitro* e em sistemas vivos, evidenciando ser capaz de inibir alterações oxidativas em lipídios de membrana na superfície da pele (Calabrese *et al.*, 2001)

O extrato das folhas de *Ginkgo biloba* foi diluído em álcool 50% para induzir localmente a atividade da superóxido-dismutase e da catalase. Depois da aplicação tópica na epiderme e através da via sistêmica, aumentaram a atividade de ambas as enzimas no fígado, coração e rim de ratos Sprague Dawley. O preparado diluído em álcool 50% protegeu contra os raios UVB. A mudança da estrutura dos lipídios na pele determinada por espectroscopia de ATR/FT-IR demonstrou penetração dos componentes ativos do *Ginkgo biloba* nas dosagens das formulações (Lin & Chang, 1997)

Em recente estudo foi avaliada a eficácia de um teste com creme contendo extrato de hiperico, padronizado a 1,5% de hiperforina em comparação ao placebo constituído com o veículo correspondente, para o tratamento subcutâneo de dermatite atópica. Vinte pacientes que sofriam de dermatite moderada nos lados esquerdo e direito foram tratados com o teste e o placebo. Dezoito pacientes completaram o estudo. A gravidade das lesões foi determinada por um índice SCORAD modificado. Houve melhora das lesões em ambos os lados, após o tratamento, porém, o efeito do creme de hipericum foi significativamente superior ao do placebo. A colonização da pele por *Staphy-*

lococcus aureus foi reduzida com a administração do teste e do placebo, mas o creme de hipericum mostrou melhor atividade antibacteriana. A tolerância e a aceitabilidade do cosmético foram boas tanto para o creme de hipericum e como para o veículo. Devido a superioridade significativa do creme de hipericum, comparado ao veículo no tratamento da dermatite, sua eficácia terapêutica deve ser avaliada em estudos adicionais com mais pacientes, realizando a comparação a outros terapêuticos, entre eles, os corticosteróides (Schempp *et al.*, 2003)

O extrato das flores de *Prunus persica* foi usado, desde a antiguidade, para problemas de pele na Ásia Oriental. Do extrato etanólico, quatro derivados glicosídicos de kempferol foram isolados e seus teores foram determinados por HPLC. O teor de multiflorina B foi o mais alto (3,3% p/p). O extrato de *P. persica* inibiu claramente, em 49% dos casos, o eritema e o edema induzidos pelos raios UVB, quando aplicado topicamente. Além disso, a multiflorina B inibiu a formação de eritema induzido pelos raios UVB em 80%, indicando que este composto é um dos principais ativos do extrato. Com esses resultados sugere-se que o extrato de *P. persica* possa ser útil para a proteção contra danos causados na pele pelos raios UVB quando aplicado topicamente (Kim *et al.*, 2002).

A vitamina C e E destacam-se como antioxidantes por desempenhar um papel importante, melhorando e prevenindo danos oxidativos para a pele. Porém, para promover uma proteção satisfatória, elas têm que penetrar na epiderme que serve como primeira barreira de permeação. Foram avaliados a influência de três formulações diferentes (gel, gel-emulsão e emulsão) na absorção de percutânea do 4-nerolidilcatecol, um composto antioxidante isolado do extrato e *Pothomorphe umbellata*. A absorção do 4-nerolidilcatecol isolado foi comparada com a do resíduo de evaporação do extrato etanólico de *P. umbellata*, numa solução de gel. No método foi empregada a análise de dados de permeação *in vitro*. Todas as formulações mostraram uma boa penetração na pele. O gel com o 4-nerolidilcatecol apresentou a taxa mais alta de permeação que conduziu os níveis mais altos de fitofármaco nos tecidos (Röopke *et al.*, 2002).

Geralmente é aceito que os peróxidos de lipídios fazem um papel importante em patogenias de dano celular induzido por radical livre e que os antioxidantes como a glutatona, o ácido ascórbico e o alfa-tocoferol são vitais para a defesa contra agentes oxidantes endógenos e exógenos. Foi investigada a efetividade de uma combinação natural, derivada de extrato de óleo de limão, controlando a peroxidação lipídica induzida pelos radicais livres e danos na pele. Era previsto que uma combinação isolada de óleo de limão estivesse dotada de atividade antioxidante e que seria capaz de inibir reações de radical livre. O estudo apontou uma perspectiva pré-clínica nas propriedades

bioquímicas do óleo de limão (Calabrese *et al.*, 1999).

Um estudo recente avaliou a tolerância a um creme a base do extrato de *Ruscus aculeatus* e *Mellilotus officinalis* e sua eficácia terapêutica em pacientes com doença funcional unida à insuficiência venosa ou linfática complicada. Esta associação agiu como vasoconstritor graças ao extrato de *R. aculeatus*, e também pode reduzir o edema, graças ao extrato de *M. officinalis*. Os parâmetros clínicos tradicionais de insuficiência venosa crônica (edema, peso, coceira, câimbras e outros sintomas) foram avaliados durante o tratamento. Os resultados mostraram uma melhoria de todos os sintomas monitorados e a resposta clínica foi positiva para cada parâmetro da avaliação (Consoli, 2003).

Foi investigada a permeabilidade de combinações naturais lipofílicas na pele de ratos: gisenosideo, baicaleína, glicirrizina, wogonina, honokiol, magnolol, bergapteno, shikonino, sinomenina. Estas substâncias tiveram pequena penetração na pele e também foram pouco acumuladas. A quantidade absorvida na pele de cada combinação estava relacionada com a lipofilicidade delas, apresentada nos ensaios *in vitro*. Destes resultados, ficou claro que combinações naturais que tem lipofilicidade suficientemente alta penetram na pele de ratos sem (Sekiya *et al.*, 1997).

O extrato de meliloto pode ser efetivo para tratar síndrome varicosa localizada ou fragilidade capilar. O revestimento em monocamada foi selecionado para obter uma liberação prolongada de cumarina contida num complexo fitoterápico. Dois tipos de revestimento de ácidos polimetacrílicos, I, baseado em uma mistura de Eudragit E100 e Eudragit NE, e II, baseado em Eudragit L100, foram utilizados. Ambos os revestimentos foram equivalentes em termos de liberação de cumarina e quanto aos perfis de fluxo para penetração através da pele. Os dois revestimentos diferiram significativamente, com relação às propriedades adesivas. A baixa taxa de filtração glomerular do revestimento I mostrou seu fracasso adesivo confirmando seu desempenho *in vivo*. Quando comparado o revestimento do extrato de meliloto com outros revestimentos análogos contendo cumarina sintética, o complexo fitoterápico meliloto não mostrou nenhum efeito vantajoso (Minghetti *et al.*, 2000).

Desordens dermatológicas, como o melasma e as manchas da idade apresentam recursos terapêuticos ainda insuficientes, devido à baixa penetração e à baixa estabilidade das fórmulas. Isto levou a buscar novos agentes clareadores para satisfazer as demandas médicas para agentes despigmentantes. O extrato de alcaçuz, inibidor da enzima tirosinase, atuou melhor do que o esperado para a glabridina o que motivou a testar outros componentes potencialmente da tirosinase. Os resultados indicaram que o glabreno e a isoliquiritigenina, do extrato de alcaçuz

podem inibir ambas as atividades de tirosinase. O IC_{50} para o glabreno e isoliquiritigenina foi de 3,5 e 3,1 μ M, respectivamente, quando a tirosina era usada como substrato. Os efeitos do glabreno e da isoliquiritigenina sobre atividade na tirosinase foram dose-dependentes e correlacionados com sua capacidade de inibir a melanogênese em melanócitos. Este foi o primeiro estudo indicando que glabreno e isoliquiritigenina apresentam graus variados de inibição em biossíntese de melanina tirosinase-dependente (Nerya *et al.*, 2003).

Conclusões

A pele desempenha varias funções no organismo e serve como via de administração de fármacos possibilitando a permeação e facilitando que os mesmos atinjam a circulação sistêmica.

Com o aumento da utilização de produtos naturais, cresce a busca por alternativas de substancias que possibilitem a prevenção e tratamento de doenças sem agredir o organismo. As pesquisas por novas formas farmacêuticas fitoterápicas vêm crescendo, a fim de viabilizar fitofármacos eficazes, seguros e com boa biodisponibilidade, entre estas formas a de aplicação na pele.

Mas os fitofármacos têm o inconveniente de ocorrerem nas plantas formando, freqüentemente, â-glicosídeos bastante hidrossolúveis e com pouca probabilidade de serem absorvido através da pele. Os estudos tem proposto o uso de facilitadores de penetração cutânea e o aumento da lipofilicidade destes para intensificar a absorção na pele e biodisponibilidade destes fármacos no organismo.

As formas farmacêuticas de aplicação na pele têm algumas vantagens em relação a outras vias de administração tais como: menor irritação e toxicidade sistêmica, permite melhor controle da absorção, possibilidade de diversificação dos locais de aplicação e evita o efeito de primeira passagem aumentando assim a biodisponibilidade do fármacos na circulação.

Aliados aos recursos da moderna tecnologia, a indústria cosmética tem investido em pesquisas para o desenvolvimento de fitocosméticos com plantas medicinais visando um mercado promissor pela busca em manter o organismo saudável e em equilíbrio com produtos de alta qualidade.

Referências

- Amato M, Hueppi P, Isenschmid M & Schneider H (1992) Developmental aspects of percutaneous caffeine absorption in premature infants. **American Journal of Perinatology** 9: 592-594.

- Ansel HC, Popovic NG & Allen Jr LV (2000) **Farmacotécnica:** formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos. 6 ed. São Paulo: Premier.
- Bonina FP, Carelli V, Di-Colo G, Montenegro L & Nannipieri, E (1993) Vehicle effects on *in vitro* skin permeation of and stratum corneum affinity for model drugs caffeine and testosterone. **International Journal of Pharmaceutics** (Amsterdam) 100: 41-47.
- Bonina FP, Bader S, Montenegro L, Scrofani C & Visca M (1992) Three phase emulsions for controlled delivery in the cosmetic field. **International Journal of Cosmetic Science** 14: 65-74.
- Botsaris AS & Machado PV (1999) **Flora Medicinal**. 1ª edição. Volume I. Rio de Janeiro: Editora J Monteiro da Silva,.
- Brounaugh RL & Franz TJ (1986) Vehicle effects on percutaneous absorption: In vivo and in vitro comparisons with human skin. **British Journal of Dermatology** 115: 1-12.
- Brounaugh RL & Stewart RF (1986) Methods for in vitro percutaneous absorption studies: VI. preparation of the barrier layer. **Journal of Pharmaceutical Sciences** 75: 487-491.
- Bucks DAW, Hostynek JJ, Hinz RS & Guy RH (1993) Uptake of two zwitterionic surfactants into human skin *in vivo*. **Toxicology and applied Pharmacology** 10: 224-227.
- Calabrese V, Randazzo SD, Catalano C & Rizza V (1999) Biochemical studies on a novel antioxidant from lemon oil and its biotechnological application in cosmetic dermatology. **Drugs Experimental and Clinical Research** 5: 219-225.
- Calabrese V, Scapagnini G, Catalano C, Bates TE, Dinotta F, Micali G & Giuffrida-Stella AM (2001) Induction of heat shock protein synthesis in human skin fibroblasts in response to oxidative stress: regulation by a natural antioxidant from rosemary extract. **International Journal of Tissue Reactions** 2: 51-58
- Consoli A (2003) Chronic venous insufficiency: an open trial of FLEBS Crema. **Minerva Cardioangiologica** 4: 411-416.
- Ferreira AO (2002) **Guia Prático da Farmácia Magistral**. 2ª ed. Juiz de Fora: Editora Ferreira.
- Gartner LP & Hiatt JL (2002) **Atlas colorido de histologia**. Tradução de Leila Francisca de Souza, Maria das Graças Fernandes Sales. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- Idson B (1985) Percutaneous absorption enhancers. **Drugs Experimental and Cosmetic Industry** 137: 30.
- Junqueira LC & Carneiro J (1999) **Histologia básica**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- Kim YH, Yang HE, Park BK, Heo MY & Kim HP (2002) The extract of the flowers of *Prunus persica*, a new cosmetic ingredient, protects against solar ultraviolet-induced skin damage in vivo. **Journal of Cosmetic Science** 1: 27-34.
- Lachman L, Lieberman H & Kaning JL (2001) **Teoria e prática na indústria farmacêutica**. Tradução de João F. Pinto, Ana Isabel Fernandes. 2 v. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian.
- Lin SY & Chang HP (1997) Induction of superoxide dismutase and catalase activity in different rat tissues and protection from UVB irradiation after topical application of Ginkgo biloba extracts. **Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology** 6: 367-71.
- Minghetti P, Casiraghi A, Cilurzo F & Montanari L (2000) Development of local patches containing melilot extract and *ex vivo* - *in vivo* evaluation of skin permeation. **European Journal Pharmaceutical Science** 2: 111-117.
- Nerya O, Vaya J, Musa R, Israel S, Bem-Arie R & Tamir S (2003). Glabrene and isoliquiritigenin as tyrosinase inhibitors from licorice roots. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 5: 1201-1207.
- Oberthur C, Heinemann C, Elsner P, Benfeldt E & Hamburger M (2003) Comparative study on the skin penetration of pure tryptanthrin and in *Isatis tinctoria* extract by dermal microdialysis coupled with isotope dilution ESI-LC-MS. **Planta Medica** 69: 385-389.
- Prista LN, Bahia MF & Vilar E (1995). **Dermofarmácia e cosmética**. Lisboa: Editora ANF, 2 v.
- Remington JP (1995) **Remington: ciência y prática de la farmacia**. Tradução de Octávio A. Giovanniello. et al. 19. ed. Pennsylvania: Mark Publishing Company.
- Ressmann S, Biber A, Wonnemann M, Schug B, Blume HH & Müller WE (2002) Influence of pharmaceutical quality on the bioavailability of active components from *Ginkgo biloba* preparations. **Journal of Pharmaceutical Pharmacology** 5: 1507-1514.
- Robbers JE, Speedie MK & Tyler VE (1997) *Ginkgo*. In: **Farmacognosia e farmacobiotechnologia**. São Paulo: Editorial Premier, pp. 100-101.
- Röpke CD, Kaneko TM, Rodrigues RM, Silva VV, Barros S, Sawada TCH; Kato MJ & Barros SBM (2002) Evaluation of percutaneous absorption of 4-nerolidylcatechol from four topical formulations. **Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology** 1-2: 109-116.
- Roskos KV, Maibach HI & Guy RH (1989) The effect of aging on percutaneous absorption in man. **Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics** 17: 617-630.
- Rothman S (1954) **Physiology and biochemistry of the skin**. Chicago: Chicago University Press, 1954.
- Schempp CM, Windeck T, Hezel S & Simon JC (2003) Topical treatment of atopic dermatitis with St. John's Wort cream a randomized, placebo controlled, double blind half-side comparison. **Phytomedicine** 3: 31-37.
- Sekiya K, Kadota S, Katayama K, Koizumi T & Namba T (1997) Study on baths with crude drug. III. The effect of ligustici chuanxiong rhizome extract on the percutaneous absorption of some natural compounds. **Biological and Pharmaceutical Bulletin** 9: 983-987.
- Tregear RT (1996) **Physical functions of the skin**. New York: Academic Press.