

코지산을 함유한 폴록사머 겔 제제의 약물방출 및 피부자극성

박은우 · 조성완 · 김동섭* · 최기환* · 최영욱†

중앙대학교 약학대학, *국립독성연구소 약효약리과
(1998년 7월 30일 접수)

Drug Release and Skin Irritancy of Poloxamer Gel Containing Kojic Acid

Eun Woo Park, Seong Wan Cho, Dong Sup Kim*, Ki Hwan Choi* and Young Wook Choi†

College of Pharmacy, Chung-Ang University, Seoul 156-756, Korea
*Dept. of Clinical Pharmacology, National Institute of Toxicology Center,
Seoul 122-704, Korea

(Received July 30, 1998)

Low toxicity, reverse thermal gelation and high drug loading capabilities suggest that poloxamer 407 gels have great potential as a topical drug delivery system. Kojic acid (KA) is an antimelanogenic agent which has been widely used in cosmetics to whiten the skin color. However, it has the drawbacks of skin irritancy due to its acidic pH. Poloxamer gels of different polymer contents were formulated to overcome the problem and compared to the cream type formulations of either w/o/w multiple emulsion cream or o/w type emulsion cream. Using Franz diffusion cells mounted with a synthetic cellulose membrane (MWCO 12,000), drug release characteristics of the formulations were evaluated by the HPLC assay of KA concentration in the receptor compartment of pH 7.4 phosphate buffered saline solutions. Drug release from w/o/w multiple emulsion cream was controlled by oil membrane, showing the apparent zero order release kinetics. The KA release from the poloxamer gels was also controlled by the gel matrix, showing that drug release increased linearly as KA contents increase, but decreased exponentially as the polymer contents increase. In the skin irritancy test, the primary irritancy index(PII) of poloxamer gel base was lower than those of multiple emulsion cream base and o/w cream. Depending on KA contents or polymer contents in the gel, PII values in poloxamer gels were ranged from 1.3 to 2.0, which are interpreted as low or negligible irritation on skin. There was a good correlation between the log value of flux in drug release and PII value in skin irritation. It was possible to conclude that the poloxamer gels containing KA might be a good candidate for an antimelanogenic topical delivery system by virtue of the controlled release of the drug and the reduced skin irritancy.

Keywords—Kojic acid, Antimelanogenesis, Poloxamer, Gels, Creams, Controlled release, Skin irritation

폴록사머(Poloxamer)는 친수성 부분인 에칠렌 옥사이드(A)와 소수성 부분인 프로필렌 옥사이드(B)가 ABA 구조를 형성하고 있다.¹⁾ 일반적으로 수용성 고분자가 교차중합된 하이드로 겔 제제는 생체적합성이 높고, 공기중의 수분을 흡수하여 팽윤하는 성질을 갖기 때문에 부드럽고 감촉이 좋으며, 피부에 대한 자극성이 적고 수세가 용이한 장점이 있다.²⁾ 또한 고분자 매트릭스로부터의 약물의 방출을 제어할 수 있는 장점이 있기 때

문에 최근에 외용제제의 기제로 많이 이용되고 있다.^{3,6)} 70%의 에칠렌 옥사이드와 30%의 프로필렌 옥사이드를 함유한 폴록사머 407은 평균 분자량이 11,500이며 제제 중 20% 이상이 되면 겔을 형성한다.⁷⁾ 제조한 하이드로 겔은 외관이 투명하고, 상온에서 겔이 형성되고 냉장 상태에서는 졸을 형성하는 reverse thermal gelation behavior를 나타낸다.⁸⁾ 독성이 낮고, 용해능력이 뛰어나기 때문에 인터루킨,^{2,9)} 항암제,¹⁰⁾ 비스테로이드성 소염진통제,^{7,11,12)} 화상 치료제나 국소 마취제,¹³⁾ 녹내장 치료제^{13,14)} 등 약물을 복강,¹⁰⁾ 피하,⁹⁾ 안구내,^{13,14)} 직장내,⁷⁾ 피

†본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

부^{11,12)}의 경로로 투여함에 있어서 약물의 방출을 제어할 목적으로 최근에 많이 사용되었다.

알부틴과 함께 효과적인 티로시나제 억제제로 보고된 코지산(kojic acid, KA)은 아스페루길루스 속등의 균주를 배양하여 얻어지는 물질이다.¹⁵⁾ 미백 효과가 뛰어나다고 보고된 코지산은 티로시나제의 Cu^{2+} 와 착체를 형성하여 멜라닌 생성을 억제하며, 또한 dopachrome tautomerase 와 dihydroxyindole-2-carboxylic acid (DHICA) oxidase를 저해함으로써 멜라닌 중합체 형성을 억제하여 미백효과를 나타낸다.¹⁶⁾ 그러나, 코지산은 약물 자체의 산성에 기인한 발적, 소양감과 같은 피부 자극성이 있고 공기중에서나 빛에 대해 불안정하기 때문에 외용제제화에 문제점이 있어서 코지산 분자의 화학 구조를 수식하는 방법^{17,18)}이나 다중 유제 크림과 같은 제형을 통한 방법¹⁹⁾등이 시도되었다.

본 연구에서는 코지산의 문제점을 극복하기 위하여 생체적합성이 뛰어난 외용 겔 기재인 폴록사머를 이용하였다. 코지산의 농도와 폴록사머 407의 함량을 변화시켜 수용성 겔 제제를 제조하였으며, 대조용 외용제제로서는 O/W 형태의 크림 및 W/O/W 형태의 다중 유제크림을 제조하였다. 제조한 폴록사머 겔, 크림 및 다중유제크림을 제모한 토끼 피부에 도포하여 피부 자극성을 평가하였으며, Franz diffusion cell을 이용하여 제제로부터 약물의 방출특성을 평가하였다.

실험방법

기기 및 시약

시험용 겔 및 대조용 크림의 제조시에는 미국 Cole-Parmer사의 controller(Model No.50000-00)와 head (Model No. 50000-30)를 갖춘 mixer를 사용하였고, 코지산 분석에는 Hitachi사의 chromat integrator (D2500), pump(L7100), UV detector(L4200H)를 부착시킨 HPLC를 사용하였다. 미국 Corning사의 hot plate stirrer(PC 351), 일본 Kyowa Interface Science사의 thermo controller와 Franz type diffusion cell을 사용하였다.

약물로서 kojic acid 는 일본 Tokyo Kasei Kogyo사로부터 구입하였고, 수용성 고분자인 Poloxamer 407은 BASF사로부터 구입하여 그대로 사용하였다. 그외의 시약은 분석용 특급 시약을 사용하였다.

시험용 겔 및 대조용 외용제제의 제조

코지산을 함유한 폴록사머 겔은 cold method를 이

용하여 제조하였다.²⁰⁾ 코지산의 농도를 0.1-1%, 폴록사머 407의 함량을 20-40%로 변화시키면서 시험용 겔 제제를 제조하였다. 먼저 폴록사머 407을 증류수에 가한 후 하룻밤 냉장방치하여 완전히 용해시키고 30분간 자석 교반하면서 KA를 폴록사머 겔에 분산시킨 다음 상온에서 1일간 숙성시켰다. 한편, 대조용 외용제제로서 O/W 형태의 크림 및 W/O/W 형태의 다중유제크림을 제조하였으며, O/W 크림은 수욕내에서 mineral oil, caprylic capric triglyceride, stearic acid를 비이커에 가하고 75°C로 가온하여 유상을 제조하고 미리 KA, 물, 글리세린, tween 60을 혼합하여 제조한 수상에 가하고 1200 rpm으로 10분간 교반한 후 냉각시킨 다음 상온에서 1일간 방치했다. W/O/W 다중유제크림은 최내상에 tween 80과 2% PVP 용액을 섞고 여기에 KA를 넣은 후, 미리 mineral oil, span 80과 caprylic capric triglyceride를 섞어 제조한 유상을 혼합하였다. 혼액을 1500 rpm으로 10분간 교반하여 W/O 유제를 제조한 다음, 물과 프로필렌글리콜로 미리 제조한 수상에 W/O유제를 넣고 300 rpm으로 5분간 교반한 후 바로 냉각시킨 다음 상온에서 1일간 숙성시킨후 시료로 사용하였다.

약물 방출 실험

Franz diffusion cell의 donor측 시료는 위에서 제조한 시료를 각각 3g씩 적용하고 parafilm으로 밀봉하였으며, receptor측은 pH 7.4 등장인산완충액 (PBS)을 10.5 ml씩 채워넣고 확산막으로 반투막(MWCO 12,000, Visking dialysis tubing, Germany)을 장착한 후 클램프로 고정시켰다. 이때의 유효확산면적은 2.54 cm^2 이었다.

Thermo controller를 사용하여 온도를 $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 로 맞추고, 천천히 spin bar를 회전시키면서 미리 정한 시간마다 receptor 측에서 1 ml씩 정확하게 채취하여 검액으로 하였으며 매회 채취한 다음 receptor측에 PBS 용액을 동량 보충하였다. 모든 검액은 vortex mixer로 1분간 진탕한 후 $0.45 \mu\text{m}$ PTFE 멤브레인필터로 여과하고 그 여액 중의 KA 농도를 HPLC로 정량하였다.

피부 자극 시험

제조한 겔과 크림 제제의 국소 독성을 평가하기 위해 의약품등의 독성시험기준(식품의약품안전청 고시 제1996-8호, 1996. 4.16) 제 10조에 의거하여 식품의약품안전청 표준작업 방법서(S.O.P)에 따라 실시하였다. 실험동물은 젊고 건강한 백색 토끼(체중 2.5-3.5 kg) 6마리를 사용하였다. 실험 개시전에 토끼 등부위

를 상처가 나지않도록 제모한 후, 건강 피부 2개소와 찰과 피부 2개소로 구분하여 각 제제 0.5g를 제모된 등피부에 도포하고 가아제로 덮고 테이프로 폐쇄 드레싱을 하였다. 시험제제 투여후 24시간과 72시간제의 도포 국소 부위의 홍반, 부종, 출혈, 가피형성 등의 변화를 육안적으로 관찰하였다. 24시간제의 관찰은 시험제제 적용 24시간 경과 후 폐쇄 드레싱을 제거하고 30분 후에 실시하였다. 피부반응정도는 홍반과 가피형성에 대해 홍반이 전혀 없을 때는 0, 육안으로 겨우 식별할 정도의 아주 가벼운 홍반이 있을때는 1, 분명한 홍반이 있을때는 2, 약간 심한 홍반에는 3, 심한 홍반과 가벼운 정도의 가피가 형성되면 4로 채점하였다. 부종의 정도에 따라 부종이 전혀 없을때는 0, 아주 가벼운 부종의 경우 1, 뚜렷하게 부어올라서 변연부가 분명히 구별될 정도의 가벼운 부종이 있을때는 2, 1mm 정도 부어오른 보통의 부종이 있을때는 3, 1mm이상 부어 오르고 노출주위 밖까지 확장된 심한 부종이 생겼을때는 4로 채점하였으며, 24시간과 72시간대의 홍반 평점과 부종 평점을 합산하여 평균치인 일차자극지수(Primary Irritancy Index: PII로 약함)를 이용하여 피부자극성 정도를 평가하였다.

KA의 정량

KA 10 mg을 정확하게 취해서 100 ml용량 플라스크에 넣고 물에 용해시켜 표선을 맞춘다. 이를 희석하여 1, 2, 5, 10, 20, 50, 100 µg/ml의 농도의 용액을 제조하여 0.45 µm PTFE 멤브레인필터로 여과한 여액을 검액으로 하여 HPLC로 정량하였다. 분석조건은 역상컬럼인 GL Sciences 사의 Inertsil ODS-3(4.6×250 mm, 5 µm)을 사용하여 검출 파장 268 nm에서 분석하였고, 이동상은 9% 아세트니트릴과 91% PBS (pH 3.0)로 하여 유속은 1.0 ml/min, 주입량은 20 µl로 하였다. KA의 retention time은 4.5분이었으며, 피이크 면적을 측정하여 검량선을 작성하였을 때 양호한 직선성(상관계수 r=0.9997)을 나타내었다.

결과 및 고찰

젤 제제 및 크림제제에서의 약물 방출 특성

KA를 0.1% 함유한 시험용 젤 및 대조용 크림 제제로부터 약물의 방출 양상을 살펴 본 결과(Figure 1), 대체적으로 초기 3-4시간까지는 다소 빠른 방출을 나타냈고 이후 지속적인 방출 제어 양상을 보여 전체적으로 겔보기 0차 반응에 따라 약물 방출이 일어남을 알 수 있

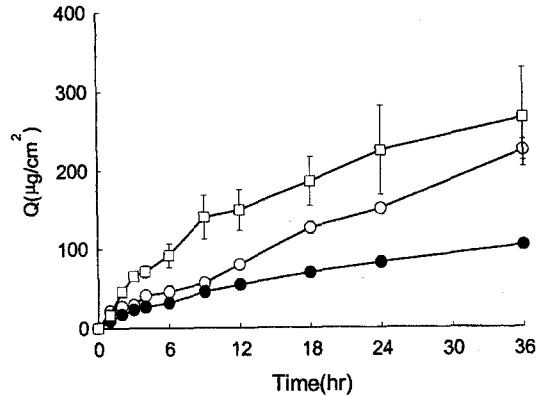


Figure 1—Kojic acid(KA) release from poloxamer gel (○), W/O/W multiple cream(●), and O/W cream(□) in Franz diffusion cell. KA contents in the preparations were 0.1% and data are expressed as the Mean±S.E. (n=3).

었다. 36시간까지의 방출량을 비교해 볼 때, O/W 크림 제제로부터의 방출량이 가장 많았으며 W/O/W 크림으로부터의 방출량이 가장 적었다. 폴록사머 젤 제제는 중간정도의 방출량을 보였으며, 방출속도를 비교해 볼 때 초기 4시간까지는 9 µg/cm²·hr, 이후 36시간까지는 6 µg/cm²·hr였다. 다중유제크림은 최내상의 약물이 최외상으로 나오는 과정에서 유상에 존재하는 오일막에 의해 방출이 제어되며,²¹⁾ 이때 유상의 두께, 농도, 점도등이 약물의 방출에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다.^{21,22)} 다중유제크림으로부터 KA의 방출속도는 초기 4시간까지는 6 µg/cm²·hr, 36시간까지는 2 µg/cm²·hr로 나타났고, 다른 외용제제와 비교할때 다중유제크림으로부터 KA의 방출은 초기부터 제어되었으며, 이는 최내상에 봉입된 약물이 유상을 통해 최외상으로 나오는 과정이 유상에 의해 제어된 것으로 해석된다. O/W 크림으로부터 KA의 방출 속도는 초기 4시간까지는 19 µg/cm²·hr, 4시간 이후로는 점점 속도가 늦어졌으나, 다중유제나 젤 제제에 비해 결과적으로 많은 약물 방출을 나타내었다.

코지산 함량에 따른 방출 특성

일반적으로 어떤 약물이 기체에 완전히 용해될 때 초기 약물 농도를 증가시키면 비례적으로 약물의 방출 속도가 증가한다.¹¹⁾ 이는 초기 약물 농도가 증가하면서 매트릭스 내부와 외부 사이에 농도 차의 증가에 의해 약물 방출 속도가 증가되기 때문이다. 따라서 젤 제제 중의 약물 함량에 따른 방출 특성을 평가하기 위해 KA 함량이 0.1, 0.5, 1.0% 인 시험제제를 제조하였으며, 이때 젤 기체는 폴록사머의 함량을 30%로 고정하

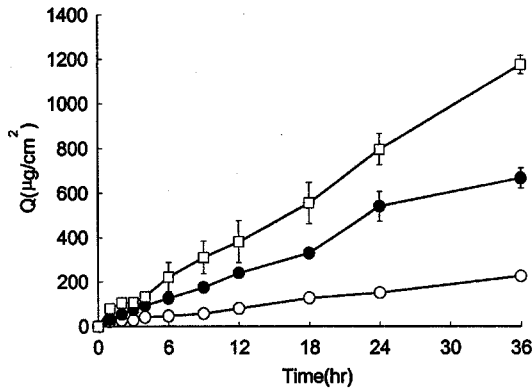


Figure 2—KA release from poloxamer gels containing various concentrations of kojic acid in Franz diffusion cell. Poloxamer contents were 30% and data are expressed as the Mean±S.E. (n=3). Key: ○: KA 0.1%, ●: KA 0.5%, □: KA 1%

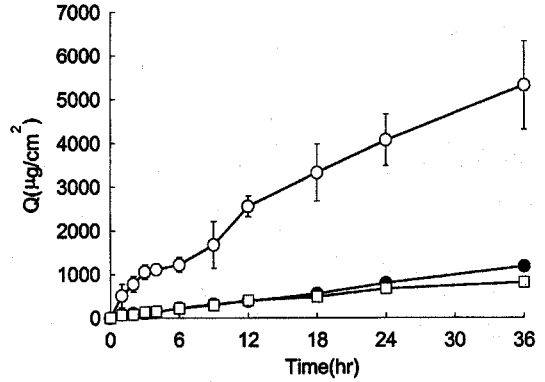


Figure 3—Kojic acid release from poloxamer gels containing 20% (○), 30% (●), 40% (□) of poloxamer 407 in Franz diffusion cell. KA contents in the preparations were 1% and data are expressed as the Mean±S.E. (n=3).

였다. Figure 2에서 볼 수 있는 바와 같이, KA 함량 증가에 따라 약물방출량도 비례적으로 증가하였다. 즉, 겔 제제에서 KA 농도가 0.1, 0.5, 1.0%로 증가하면서, 약물의 방출 속도는 6, 19, 32 $\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{hr}$ 로 빨라졌으며, 초기 약물 농도와 약물 방출 속도 사이에 비례관계가 성립되었다($r=0.997$). 이는 초기 약물 농도의 증가에 의해 매트릭스의 내부와 외부 사이에 농도 구배가 형성되면서 농도 증가에 따라 약물의 열역학적 활성도가 증가되었기 때문인 것으로 사료된다.

폴록사머 함량에 따른 방출 특성

폴록사머를 이용하여 겔 제제를 만들때, 고분자의 함량이 겔의 내부 구조적 성질에 영향을 미쳐 결과적으로 약물의 방출에 영향을 줄 것으로 판단되었으므로 폴록사머의 함량을 20-40%로 변화시킬때 약물 방출이 어떻게 변화하는가를 관찰하였으며(Figure 3), 이때 KA 함량은 1%로 고정하였다. 폴록사머 407의 함량이 20, 30, 40%로 증가하면서 약물의 방출 속도는 145, 32, 23 $\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{hr}$ 로 감소되어 고분자 함량 30%를 경계로 약물방출량이 현저히 감소됨을 알 수 있었다. 이는 약물방출속도가 폴록사머 407의 함량에 의존적으로 변화하는 함수라는 것을 보여주는 것으로서, 이러한 결과는 Gilbert⁸⁾의 연구보고와 일치한다. 즉, 폴록사머 407의 함량이 증가할수록 크기가 크고 많은 수의 미셀이 형성되고 미셀에 의한 용해도가 증가되어 매트릭스 사이에 존재하는 물 통로의 수와 크기가 감소하며 이로 인하여 확산 거리가 증가하게 되고 확산 계수가 감소하면서 약물의 방출속도가 지수함수적으로 감소한 것으로 생각된다.

피부자극성

피부에 대한 자극성을 평가하는 방법은 여러 가지가 있으나, *in vitro*와 *in vivo*로 크게 나누어 볼 수 있다. *in vitro*상에서는 배양한 Human keratinocytes의 분화를 관찰하여 피부독성을 평가하는 방법²³⁾과 단백질과 계면활성제의 상호작용을 이용한 zein test에 의해 피부자극성을 평가하는 방법²⁴⁾등이 있다. 또한 *in vivo*상에서는 rat, guinea pig, rabbit과 같은 실험 동물을 이용하는 방법²⁵⁻²⁸⁾과 사람²⁹⁾을 대상으로 하여 제제의 피부 자극성을 평가하는 방법도 있다. 본 실험에서는 의약품등의 독성시험기준에 의거하여 토끼를 이용하여 피부 국소 독성을 평가하였고, 일차자극지수(PII)를 구하여 제제간의 피부자극성을 비교하였다.

먼저 시험용 겔 및 대조용 크림의 기체와 0.1%

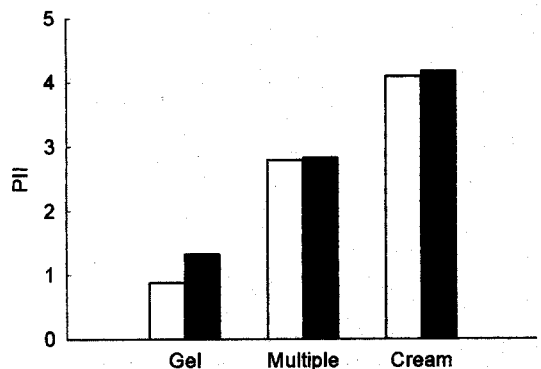


Figure 4—The Primary irritancy index (PII) of various bases (□) and topical preparations (■) containing 0.1% kojic acid.

KA를 함유한 제제에서의 피부자극성을 평가하였다 (Figure 4). 폴록사머의 경우 겔제와 KA 0.1% 함유제제의 PII는 각각 0.9 및 1.3 이었다. 다중유체크림의 경우는 기제와 0.1% KA를 함유한 제제의 PII는 약 2.8로 비슷하였으며, O/W 크림의 경우도 기제와 0.1% KA를 함유한 제제 모두 약 4.1로서 거의 동등하게 관찰되었다. 폴록사머 겔 제제가 전체적으로 자극성이 낮았으며, 다중유체크림과 O/W 크림 제제의 자극성은 중등도의 자극성이 있는 것으로 나타났다. Rhein과 Simion은 계면활성제가 각질층의 케라틴과 결합하여 단백질을 변성을 시키는 한편 지방을 변성시켜서 피부 세포막을 파괴시키며 이에 의해서 홍반, 부종, 출혈, 가피형성과 같은 자극성을 일으킨다고 보고하였다.³⁰⁾ 따라서 다중유체크림과 O/W 크림이 폴록사머 겔보다 PII가 높은 것은 크림제제의 제조시 첨가된 계면활성화제에 기인한 것으로 사료된다.

한편, 피부 자극성에 미치는 폴록사머 겔 중의 KA 농도와 폴록사머 함량의 영향을 평가하였는데 (Figure 5), KA의 농도가 증가함에 따라 PII가 비례적으로 증가함을 알 수 있었으며, 반대로 KA의 농도가 1%인 제제에서 폴록사머 함량을 20, 30, 40%로 증가시켰을 때 각각의 PII는 2.0, 1.8, 1.7로서 폴록사머 함량 증가에 따라 자극이 감소함을 알 수 있었다.

그러나 여기서 주목할 것은 겔 제제 중 KA의 농도가 0.1%(PII 1.3)에서 1%(PII 1.8)로 10배 증가하였음에도 불구하고 PII의 변화는 약 0.5 정도로 상대적으로 약간의 증가를 보였을뿐 아니라 독성시험기준에 의거하여 평가할 때 여전히 약한 자극성을 나타내었다는 점이다. 따라서, 폴록사머 겔을 이용하여 KA를 제제화할 경우 기존의 크림제에 비해 피부자극을 현저히 줄

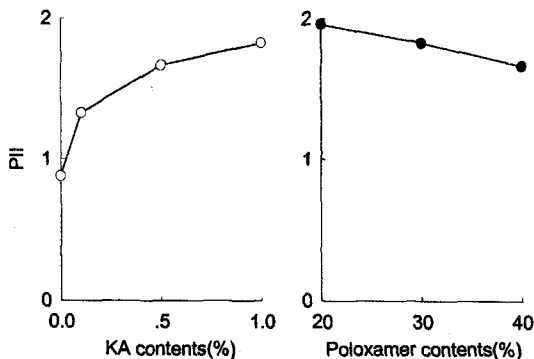


Figure 5—Dependence of skin irritation on KA contents(Left) and poloxamer contents(Right) in poloxamer gels.

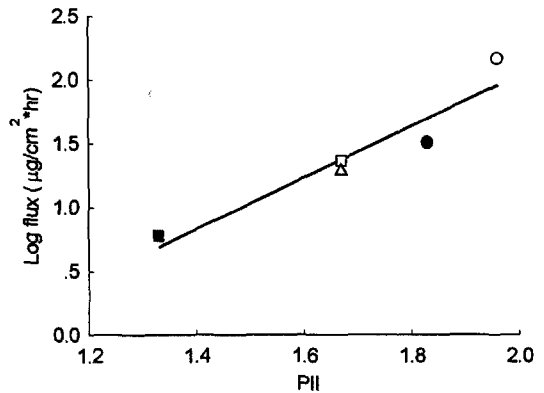


Figure 6—The correlation between PII and log flux of various poloxamer gels. Key: ○: poloxamer 20% (KA 1%), ●: poloxamer 30%(KA 1%), □: poloxamer 30%(KA 0.5%), ■: poloxamer 30%(KA 0.1%), △: poloxamer 40%(KA 1%)

일 수 있는 가능성을 시사하였다.

피부 자극성과 약물 방출의 상관성

약물의 방출과 피부자극성의 상관성을 알아보기 위하여 시험제제로서 사용된 각 폴록사머 겔 제제들의 PII와 Flux(μg/cm²·hr)의 대수치를 플롯하였을 때 (Figure 6), 비록 한정된 시료로부터 얻어진 결과이긴 하나 피부자극성과 약물 방출 속도의 대수 사이에 직선적인 관계를 보여주었으며 높은 상관성이 관찰되었다(r=0.950). 따라서 폴록사머 겔 매트릭스에 의해서 약물의 방출이 제어됨으로써 피부자극을 완화시킬 수 있음을 알 수 있었다.

결론

수세가 용이하고 피부친화력이 좋은 폴록사머 407을 이용하여 KA를 함유한 겔제 및 크림 제제를 제조할 수 있었다. 반투막을 장착시킨 Franz diffusion cell을 이용하여 각 제제들의 약물 방출 속도를 측정할 수 있었고, 토기를 이용하여 제제의 피부 자극성을 평가할 수 있었다.

폴록사머 겔로부터 KA의 방출은 매트릭스 구조 점성에 의해 약물 방출이 제어되면서 겔보기 0차 속도식에 따르는 양상을 나타내었다. 다중유체크림으로부터 KA의 방출은 초기부터 막제어에 의해 0차 속도식을 보여주었다. 반면에, O/W 크림으로부터 KA의 방출은 초기에 많은 양의 약물이 방출된 후 시간이 지나면서 방출량이 감소되는 양상을 나타내었다. KA의 농도가 0.1, 0.5, 1.0%로 증가함에 따라 폴록사머 겔로부터 약

물 방출 속도는 직선적으로 증가하였으며, 폴록사머 407의 함량이 20, 30, 40%로 증가하면서 KA의 방출 속도는 지수적으로 감소하였다.

폴록사머 젤 기체의 PII는 0.9로 다중유체크림이나 크림기제보다 자극성이 적었으며, 폴록사머 젤 제제에서 KA 함량 1%의 경우에도 약한 자극성을 나타내었고, 폴록사머 407의 함량이 증가함에 따라 피부자극성도 감소하였다. 다양한 농도의 KA를 함유하는 폴록사머 젤에서 KA의 방출 제어에 의해서 피부에 대한 자극성이 완화되었다. 따라서 폴록사머 젤 제제는 고분자 매트릭스에 의해서 약물의 방출을 제어하는 제제이며 기존의 크림제에 비해 피부자극을 감소시킬 수 있는 제제로 평가할 수 있었다.

문 헌

- 1) D. Attwood, J.H. Collett and C.J. Tait, The micellar properties of the poly(oxyethylene)-poly(oxypropylene) copolymer pluronic F127 in water and electrolyte solution, *Int. J. Pharm.*, **26**, 25-33 (1985).
- 2) V.R. Vasant and A.H. Mannfred, *Drug Delivery System*, CRC press, Florida, U.S.A., pp. 287-288 (1995).
- 3) M.D. Vlachou, D.M. Rekkas, P.P. Dallas and N.H. Choulis, Development and in vitro evaluation of griseofulvin gels using Franz diffusion cells, *Int. J. Pharm.*, **82**, 47-52 (1992).
- 4) S.U. Upadrashta, B.O. Häglund and L.O. Sundelöf, Diffusion and concentration profiles of drugs in gels, *J. Pharm. Sci.*, **82**, 1094-1098 (1993).
- 5) M. Rillosi and G. Buckton, Modelling mucosal adhesion by use of surface energy terms obtained from the lewis acid-lewis base approach, II. studies on anionic, cationic, and unionisable polymers, *Pharm. Res.*, **12**, 669-675 (1995).
- 6) Y. Machida, Development of topical drug delivery systems utilizing polymeric materials, *Yakugaku Zasshi*, **113**, 356-368 (1993).
- 7) S. Miyazaki, C. Yokouchi, T. Nakamura, N. Hashiguchi, W.M. Hou and M. Takada, Pluronic F-127 gels as a novel vehicle for rectal administration of indomethacin, *Chem. Pharm. Bull.*, **34**, 1801-1808 (1986).
- 8) J.C. Gilbert, J. Hadgraft, A. Bye and L.G. Brookes, Drug release from pluronic F-127 gels, *Int. J. Pharm.*, **32**, 223-228 (1986).
- 9) K. Morikawa, F. Okada, M. Hosokawa and H. Kobayashi, Enhancement of therapeutic effects of recombinant Interleukin 2 on a transplantable rat fibrosarcoma by the use of a sustained release vehicle, pluronic gel, *Cancer Res.*, **47**, 37-41 (1987).
- 10) S. Miyazaki, Y. Ohkawa, M. Takada and D. Attwood, Antitumor effect of pluronic F-127 gel containing mitomycin c on sarcoma-180 ascites tumor in mice, *Chem. Pharm. Bull.*, **40**, 2224-2226 (1992).
- 11) S.C. Chi and H.W. Jun, Release rates of ketoprofen from poloxamer gels in a membraneless diffusion cell, *J. Pharm. Sci.*, **80**, 280-283 (1991).
- 12) H.R. Suh and H.W. Jun, Effectiveness and mode of action of isopropyl myristate as a permeation enhancer for naproxen through shed snake skin, *J. Pharm. Pharmacol.*, **48**, 812-816 (1996).
- 13) S.D. Desai and J. Blanchard, In vitro evaluation of pluronic F127-based controlled-release ocular delivery systems for pilocarpine, *J. Pharm. Sci.*, **87**, 226-230 (1998).
- 14) S.G. Deshpande and S. Shirolkar, Sustained release ophthalmic formulations of pilocarpine, *J. Pharm. Pharmacol.*, **41**, 197-200 (1988).
- 15) K. Morisaki and S. Ozaki, Design of novel hybrid vitamin c derivatives: thermal stability and biological activity, *Chem. Pharm. Bull.*, **44**, 1647-1655 (1996).
- 16) Y. Mishima, S. Hata, Y. Ohyama and M. Inazu, Induction of melanogenesis suppression: cellular pharmacology and mode of differential action, *Pigment Cell Res.*, **1**, 367-374 (1988).
- 17) Y. Higa, 色白化粧品, Japan Patent, Publication SHOWA 59-33207 (1984).
- 18) Y.H. Ha, S.U. Yu, D.S. Kim, S.J. Lim and Y.W. Choi, Hydrolysis, skin permeation and in vivo whitening effect of kojic acid monostearate as antimelanogenic agent, *Yakhak Hoeji*, **42**, 39-45 (1998).
- 19) S.U. Yu, E.W. Park and Y.W. Choi, Drug release characteristics and skin irritancies of topical gels and multiple emulsion creams containing kojic acid, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **28**, 87-92 (1998).
- 20) I.R. Schmolka, Artificial skin. I. preparation and properties of pluronic F-127 gels for the treatment of burns, *J. Biomed. Mater. Res.*, **6**, 571-582 (1972).
- 21) S. Matsumoto, T. Inoue, M. Kohda and K. Ikura, Water permeability of oil layers in w/o/w emulsions under osmotic pressure gradients, *J. Colloid and Interface Sci.*, **77**, 555-563 (1980).
- 22) A.T. Florence and D. Whitehill, The formulation and stability of multiple emulsions, *Int. J.*

- Pharm.*, **11**, 277-308 (1982).
- 23) H.E.J. Hofland, J.A. Bouwstra, J.C. Berhoef, G. Buckton, G. Chowdry, M. Ponec and H.E. Junginger, Safety aspects of non-ionic surfactant vesicles: a toxicity study related to the physicochemical characteristics of non-ionic surfactants, *J. Pharm. Pharmacol.*, **44**, 287-294 (1992).
- 24) I. Pezron, L. Galet and D. Clause. Surface interaction between a protein monolayer and surfactants and its correlation with skin irritation by surfactants, *J. Colloid Interface Sci.*, **180**, 285-289 (1996).
- 25) M.T. Grau, A. Romero, A. Sacristán n and J. A. Oriz, Dermal tolerance and phototoxicity studies of seraconazole. *Arzneim. Forsch.*, **42**, 746-747 (1992).
- 26) M.L. Vericat, J.G. Rafanell, J. Forn, A. Casadesús, J. Alum and J. Zapatero, Toxicity studies with flutrimazole, *Arzneim. Forsch.*, **42**, 841-846 (1992).
- 27) Y. Shoji, T. Fukumura, M. Kudo, A. Yanagawa, J. Shimada and Y. Mizushima, Effect of topical preparation of mycophenolic acid on experimental allergic contact dermatitis of guinea-pigs induced by dinitrofluorobenzene, *J. Pharm. Pharmacol.*, **46**, 643-646 (1994).
- 28) M.F. Lu, D. Lee and G.S. Rao, Percutaneous absorption enhancement of leuprolide, *Pharm. Res.*, **12**, 1575-1579 (1992).
- 29) A. Nangia, E. Camel, B. Berner and H. Mailbach, Influence of skin irritants on percutaneous absorption, *Pharm. Res.*, **10**, 1756-1759 (1993).
- 30) L.D. Rhein and F.A. Simion, Surfactant interactions with skin, *Surf. Sci. Ser.*, **39**, 33-49 (1991).