

목초액을 첨가한 하이드로 겔 제제로부터 우르솔릭산의 피부 침적 및 보습에 미치는 영향

이계원[†] · 이주연¹

건양대학교 제약공학과 제제 개발실, ¹건양대학교 의료 뷰티학과

(2008년 1월 14일 접수 · 2008년 2월 11일 승인)

The effect on skin deposition and moisturizing of ursolic acid in hydrogel system containing wood vinegar

Gye Won Lee[†] and Ju Yeon Lee¹

Laboratory Of Galenic Technology, Department of Pharmaceutical Engineering, Konyang University, Nosan 320-711, Korea

¹Department of Medicinal Beauty, Konyang University, Nosan 320-711, Korea

(Received January 14, 2008 · Accepted February 11, 2008)

ABSTRACT – Wood vinegar is well known as a softening agent affecting on the stratum corneum that is easy to penetrate into the skin. In this study, we prepared mixed ursolic acid hydrogel with wood vinegar(1, 2, 5%) as a penetration enhancer. The accumulation of ursolic acid in the skin from hydrogels was evaluated *in vitro* hairless mouse skin and skin moisturizing effect of them was evaluated using the corneometer and the tewermeter. And the role of stratum corneum as a protective barrier was evaluated as well. The hydrogels were retained about 40% of water retention capacity 2hrs and had better effect on the stripped skin than full-thickness skin.

The accumulation of ursolic acid through stripped skin from hydrogels with wood vinegar was not change compared to normal skin, which indicated the action site of wood vinegar and the accumulation site of ursolic acid would be stratum corneum.

From these result, we could find wood vinegar seems to be a good enhancer for active materials with anti-wrinkle and anti-aging effect such as ursolic acid, and can be a developed topical delivery system maintaining excellent water retention capacity.

Key words – Ursolic acid, Wood vinegar, Skin deposition, Moisturizing effect

우르솔릭산(ursolic acid, 이하 UA로 약함)은 그의 이성질체인 oleanolic acid와 함께 많은 야채, 허브 및 여러 가지 식물에서 발견되는 pentacyclic triterpenoid계 사포닌의 일종으로 항염 효과, 항암 효과 및 항균특성이 있고 특히, 피부에 있어서 노화방지 및 주름개선 효과 등이 알려져 있어 일부 외용제 및 복용제 그리고 화장품 등에 사용되어 왔다.^{1,2)}

그러나 UA는 물이나 오일 등의 용매에는 잘 녹지 않는 물성을 가지고 있기 때문에 제제화 하기 어려워 일반적으로 사용하기 어려운 문제점이 있다.

피부를 통한 약물 흡수를 증가시킬 목적으로 사용되는 방법에는 iontophoresis와 sonophoresis 및 electroporation 등을 응용한 물리적인 접근 방법과 피부투과 촉진제를 사용하는 방법으로 크게 나눌 수 있다.³⁻⁵⁾ 피부의 최외각에 위치한 각질층은 피부 투과의 가장 큰 장벽으로서 작용하기 때문에

특히 각질에 영향을 주어 약물의 투과도를 증진시키고 지연 시간을 단축시킬 목적으로 투과 촉진제를 사용하는 방법이 많이 보고되어 있다. 피부투과 촉진제는 피부에서 약물의 용해도 파라메타나 확산 파라메타를 변경시킴으로써 피부를 통한 약물 수송에 필요한 활성화 에너지를 저하시킬 목적으로 사용된다. 피부투과촉진제⁶⁻⁸⁾로서의 이상적인 조건은 약물학적으로 활성을 가지지 않고, 독성이나 자극성이 없어야 하며, 적용시 작용 발현 시간이 빠르며 효력 지속시간을 예측할 수 있어야 하고, 피부로부터 제거되었을 때 노출된 조직은 즉시 정상적인 장벽기능을 회복할 수 있어야 한다. 일반적으로 sulfoxide, pyrrolidone, 지방산, azone, 계면활성제, urea, 알코올 및 글리콜 유도체 등이 사용되고 있다.⁹⁾

숯을 제조하는 과정에서 발생하는 연기로부터 채취되는 목초액은 초산을 주성분으로 하는 강한 산성(pH 3)의 액체이다.¹⁰⁾ 이는 사용목적에 따라 다른 제법으로 만들어지고 있으며 초산의 신맛과 더불어 고유의 탄내를 가지고 있다.

목초액은 80~90%의 물과 유기 미네랄과 같은 미량 성분

[†]본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
Tel : 041)730-5692, E-mail : pckmon@konyang.ac.kr

으로 이루어져 있으며 수분을 제외한 주성분은 초산 등 200 종류이상의 화합물을 함유하고 있으며 중요한 성분은 유기물 중 초산이 약 50% 이상 함유되어 있지만 목초액의 80% 이상이 수분으로 전 용액 중의 초산은 약 3% 정도이다.¹¹⁻¹⁴⁾

현재 국내에서 생산되는 목초액의 대부분은 농업분야에서는 토양 개량제, 식물생장조절제, 원예용 등으로 유기 농업에, 축산업에서는 가축의 육질이나 계란의 품질개선, 약취제거 등의 용도로 사용하고 있다.

목초액에는 다량의 유기산뿐만 아니라 피부에 침투하기 쉬운 성분을 함유하고 있어 피부표면에 기생하는 바이러스, 곰팡이 균의 살균작용이 뛰어나며 여드름, 노인성의 건성 피부염, 만성 습진과 음 등의 피부질환등과 피부 노화의 주범인 활성산소를 제거하는 데 사용됨으로써 피부표면의 각질연화 작용과 수렴작용 효과가 탁월한 것으로 밝혀졌다.¹⁵⁻¹⁷⁾

여러 가지 효능을 가지고 있는 목초액은 천연물 신약이나 화장품 원료로서의 가능성이 있으며 특히 유기산들은 체내에서 대사 과정이나 면역성 및 건강에 유익한 결과를 주리라 예상되고 있어 목초액의 효능을 나타내기 위해서는 유기산의 함량은 매우 중요하다 할 수 있다.

본 연구에서는 물과 접촉하였을 때 팽윤되며 그 구조 내에 물을 함유할 수 있는 폴리머로서 생체적응성이 우수하고 약물 투과도의 조절 능력을 지니므로 약물 송달체로서의 활용성이 높을 뿐만 아니라 피부와 친수성 가교를 형성하므로 피부를 수화시켜 피부를 통한 약물의 흡수를 촉진시킬 수 있는 하이드로 겔¹⁸⁻²⁰⁾을 이용하여 다양한 첨가제(1,3-부틸렌글리콜, 글리세린 및 벤질 알코올)를 첨가하여 산탄 검과 카보폴 혼합 겔의 UA 함유 피부적용 제제를 제조하였다. 또한 각질을 연화시켜 장벽으로서 기능을 저하시킬 수 있는 목초액을 투과촉진제로 선택하여 다른 농도(1, 2 및 5%)로 첨가하여 UA의 피부 침적 및 보습효과에 미치는 영향을 살펴보고 부가적으로 각질층 박리에 따른 목초액이 피부에 미치는 영향을 평가하여 각질층의 역할을 확인해보고자 하였다.

실험 방법

시약 및 기기

시약은 우르솔릭산(이하 UA로 약함)은 Sigma사(Louis, U.S.A), Diethyleneglycol monoethylester(Transcutol CG), 글리세린, 1,3-부틸렌글리콜(1,3-BG), 에탄올 및 산탄 검은 원풍(Hwaseung, Korea), 벤질 알코올은 Junsei 사(Tokyo, Japan), 카보폴 940과 트리에탄올아민은 미원(Seoul, Korea), 목초액(Wood vinegar)은 (주)젠트로(Seoul, Korea) 그리고

HPLC용 메탄올 및 아세토니트릴은 J.T Baker사(Philipsburg, U.S.A)이었다.

기기로는 magnetic stirrer & hot plate(YHPS-DX 6, Yhana Ins., Korea), 원심분리기(Hanil Sci. Ind., Korea), 피부투과장치(Labfine, Korea), Ultra Turrax[®](Ika Works Sdn. Bhd., Malaysia), vortexing mixer(G-560, Scientific Industries Inc., U.S.A), HPLC(Waters alliance 2690 system, U.S.A) 및 sonicator(JAC 1505, Korea)를 사용하였다.

실험동물

8-10주령의 웅성 무모 마우스로 다물 사이언스에서 구입하여 20~23°C, 상대습도 55±5%, 명암 교대시간 12시간을 유지하는 조건에서 실험 중을 제외하고는 먹이와 물을 충분히 공급하여 1주일간 적응시킨 후 사용하였다.

UA의 용해도

일정과량(0.5 g)의 UA를 벤질 알코올, 에탄올, 프로필렌글리콜, 1,3-부틸렌 글리콜, transcutol CG 및 글리세린 10 mL에 각각 가해 30분간 초음파 처리한 후 40°C에서 2시간 진탕시키고, 24시간 동안 교반하여 평형에 도달하게 한 후, 15000 rpm으로 10분간 원심분리 하였다. 상층액을 0.45 µm 막 여과기로 여과한 여액을 HPLC에 주입하여 미리 작성된 검량선식에 대입하여 용해된 UA의 양을 산출하였다. 이 때 HPLC의 조건은 컬럼 XTerra[™]C₁₈(particle size: 5 µm, 4.6×250 mm), 이동상 아세토니트릴:인산(85:15), Detection 206 nm. 주입량 20 µL 그리고 유속은 1.0 mL/min이었다.

UA 하이드로겔의 제조

카보폴 단독 겔은 피부에 도포하였을 때 막이 형성될 수 있으므로 이를 개선하기 위해서 카보폴과 산탄검 혼합 겔을 제조하였고 UA의 가용화와 보습효과를 주기 위해 다양한 첨가제(1,3-부틸렌글리콜, 글리세린 및 벤질 알코올)를 그리고 목초액(1, 2 및 5%)를 첨가하였다.(Table I)

In vitro 피부 내 침적 실험

8-10주령의 웅성 무모 마우스의 등 쪽 피부를 떼어내어 피하 지방과 조직들을 생리식염수로 피부가 상하지 않도록 주의하여 제거한 다음 보관 과정 없이 즉시 실험에 사용하였다.^{21,22)} 즉 제조된 UA 하이드로 겔 시료를 각질층이 박리되지 않은 피부와 박리된 피부에 각각 도포하여 Franz형 확산 셀을 사용하여 37±0.5°C로 유지시키면서 600 rpm으로 교반하면서 실시하였다.

Table I–The Formulation of Ursolic Acid Hydrogels with Various Amount of Wood Vinegar(1, 2 and 5%)

Ingredients	Formulation (w/w%)			
	A	B	C	D
Carbopol 940	0.5	0.5	0.5	0.5
Xanthan gum	0.5	0.5	0.5	0.5
Ethanol	30	30	30	30
Benzyl Alcohol	2	2	2	2
1,3-Butylene Glycol	5	5	5	5
Glycerine	5	5	5	5
Span 60	6	6	6	6
Transcutol CG	6	6	6	6
Ursolic Acid	1	1	1	1
Wood Vinegar	-	1	2	5
T.E.A	1	1	1	1
Water	q.s to 100			

Table II–The Solubility of Ursolic Acid at 40°C

Solvent	Solubility (mg/mL)
Benzyl Alcohol	28.44
Transcutol CG	6.27
Ethanol	4.33
1,3-Butylene Glycol	3.84
Glycerine	2.57
Propylene Glycol	2.02

이 때 히드로 겔을 투여한 피부 면적은 2.303 cm, receptor phase는 pH 7.4 등장인산염 완충액 11.8 mL로 채웠다.

제조되어진 UA 히드로 겔 0.5 g을 피부 표면에 도포하고 3, 6 및 9시간 후 피부를 취하여 피부표면에 남은 약물을 메탄올로 완전히 씻은 다음 해부용 가위를 사용하여 잘게 자른 뒤 메탄올 5 mL를 가하여, 5분간 vortex 한 후, 하룻밤 방치하고, 90분간 sonication하여 15000 rpm으로 10분간 원심 분리 한 뒤에 상층액을 취하여 여과한 후, 여액을 직접 HPLC로 정량하여 피부 내 침적된 약물량을 평가하였다.

In vivo 피부 보습 실험

건강한 성인 남녀 6명을 대상으로 25°C, 상대습도 50% 조건에서 전완부에 시료 0.1 g을 도포하고 각질 제거 전과 후의 단기 피부 보습능과 경피수분손실량을 평가하였다. 즉 시료 도포 전, 10, 30, 60 및 120분 후에 팔의 보습력을 평가하여 증가한 %값을 비교하였다. 제조되어진 혼합 겔을

도포한 후, corneometer와 tewermeter를 이용하여 각질을 박리하지 않은 피부와 박리된 피부에서 동일하게 단기 피부 보습능과 경피수분손실량(TEWL)을 측정하여 피부 침적과 보습에 미치는 각질층의 영향을 살펴보았다. 이 때 각질층의 박리는 셀로판테이프를 이용하여 tape stripping을 20-30회 정도 실시하였으며 각질층이 완전히 박리되어 살아있는 표피가 나타나서 피부표면이 빛나 보이는 때를 stripping 종료 시점으로 하였다.

결과 및 고찰

UA의 용해도 측정 및 히드로 겔 제조

용해도가 낮은 UA를 가용화하여 히드로 겔을 제조하기 위하여 여러 용매에 대한 UA의 용해도를 측정하여 Table II에 나타내었다. 특히 벤질 알코올에서 28.44 mg/mL로 다른 용매에 비해 월등히 높은 용해도를 나타내었으나 이를 과량으로 사용하여 피부에 적용 시 피부자극과 독성 때문에 사용이 제한되어진다. 따라서 단독 용매가 아닌 여러 가지 첨가제(1,3-부틸렌글리콜, 프로필렌글리콜, 글리세린 및 벤질 알코올)를 첨가하여 UA를 가용화한 후, 여기에 각질을 연화시키는 작용이 있는 목초액을 첨가하여 카보폴 940과 산탄검의 혼합 겔을 제조하였다. 제조된 겔을 이용하여 피부 침적

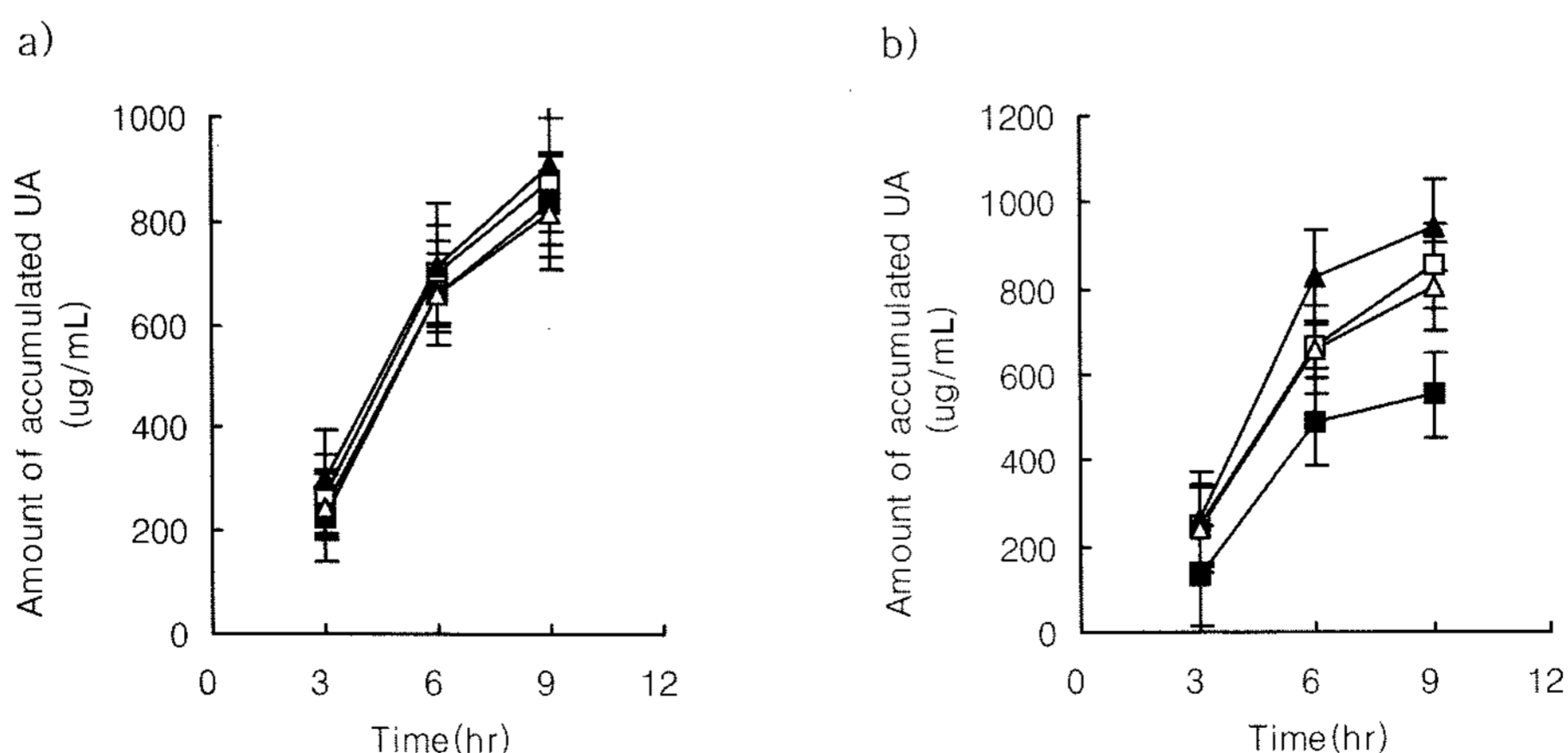


Figure 1–Skin permeation profiles of accumulated ursolic acid through full-thickness skin(a) and stripped skin(b) from ursolic acid hydrogels(Mean±S.D., n=3).

Key ; ■- Formulation A, □- Formulation B, ▲- Formulation C, △- Formulation D

및 보습 효과를 측정하고 목초액이 피부에 미치는 영향을 평가하여 피부에 적용할 수 있는 가능성을 검토하기로 하였다.

피부 침적 실험

각질은 보습량과 증발량에 영향을 미칠 뿐만 아니라 피부 침적에도 영향을 미칠 수 있으므로 각질 제거 전과 후에 UA의 피부 침적량을 측정하여 그 결과를 Figure 1에 나타내었다. 즉 각질 제거 전에는 피부 침적이 처방에 따라 차이가 없이 비슷하였지만 각질 제거 후에는 피부 침적에 현저한 차이가 나는 것을 볼 수 있었다. 목초액이 첨가되지 않은 처방 A는 각질 제거 전과 후에 3, 6 및 9시간 후의 피부 침적량은 각각 227.09, 659.62 및 832.45와 135.20, 491.41 및 552.56 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로서 각질을 제거한 후에 오히려 줄어들었다. 그러나 목초액이 들어있는 다른 처방에서는 각질 제거된 이후에도 처방 간에 차이를 나타내었지만 모두 침적량은 큰 변화가 없어 처방 B, C 및 D에서는 각각 269.02, 698.41 및 878.35와 248.85, 667.13 및 853.47, 298.16, 735.07 및 907.52와 264.64, 829.42 및 947.17 그리고 245.79, 661.39 및 816.72와 239.58, 658.84 및 805.89 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이었다. 일반적으로 약물이나 활성이 있는 물질의 피부투과 침적은 각질이 제거되면 쉽게 투과되거나 침적되는 것으로 알려져 있으나 예상과 달리 목초액이 첨가되지 않은 하이드로 겔에서 UA는 각질이 제거된 이후 피부 침적량이 감소되고 목초액이 첨가된 하이드로 겔에서는 비슷하였다. 이것은 UA의 피부침적의 주된 부위는 각질층이라는 것을 간접적으로 나타낼 뿐만 아니라 목초액의 작용부위가 각질층임을 시사해주는 결과라 할 수 있다.

피부 보습능 평가

일반적으로 수분 보유능은 UA와 같이 피부 노화나 주름 개선효과가 있는 것으로 알려진 피부 외용제의 경우 이들 기능을 유지하는데 영향을 미칠 수 있으므로 이를 평가하는 것은 중요하다고 할 수 있다. 또한 각질층은 피부에 적용되는 제제의 경우 수분 증발이나 피부 침적에 영향을 주는 장벽이므로 이에 대한 영향도 검토하여야 한다.

따라서 corneometer와 tewermeter를 이용하여 각질 제거 전과 후의 단기 피부 보습능 및 경피수분손실량(TEWL)을 측정하여 Figure 2와 3에 나타내었다.

수분을 보유하는 능력인 단기 피부 보습능은 제제를 도포하고 나서 모든 처방에서 10분에 가장 높은 수치를 나타내다가 떨어지는 경향을 나타내었다. 각질이 제거되지 않은 피부에서는 목초액이 첨가되지 않은 처방 A는 10분 이후 지속적으로 떨어져 60분에 35%정도이었으나 목초액이 2와 5% 첨가된 처방 C와 D에서는 10분 이후 60분까지 40% 정도로 거의 일정하게 유지되었다. 이러한 경향은 각질층이 제거된 피부의 경우에도 유사하였다. 일반적으로 수분 보습능은 도포하지 않은 피부보다 10~20%의 차이가 나면 보습 효과가 있는 것으로 판정할 수 있으므로 4가지 처방 모두 보습 효과가 있다고 할 수 있다.

피부 증발량을 나타내는 경피수분손실량은 전체적으로 목초액이 첨가된 세가지 처방에서는 2시간동안 2% 이하를 나타내면서 목초액이 첨가되지 않은 처방 A보다는 낮게 유지되었으며 각질이 제거된 후에도 값이 약간 낮아졌지만 동일한 결과를 나타내었다.

일반적으로 각질이 제거되면 피부 증발량은 더 높아져 경

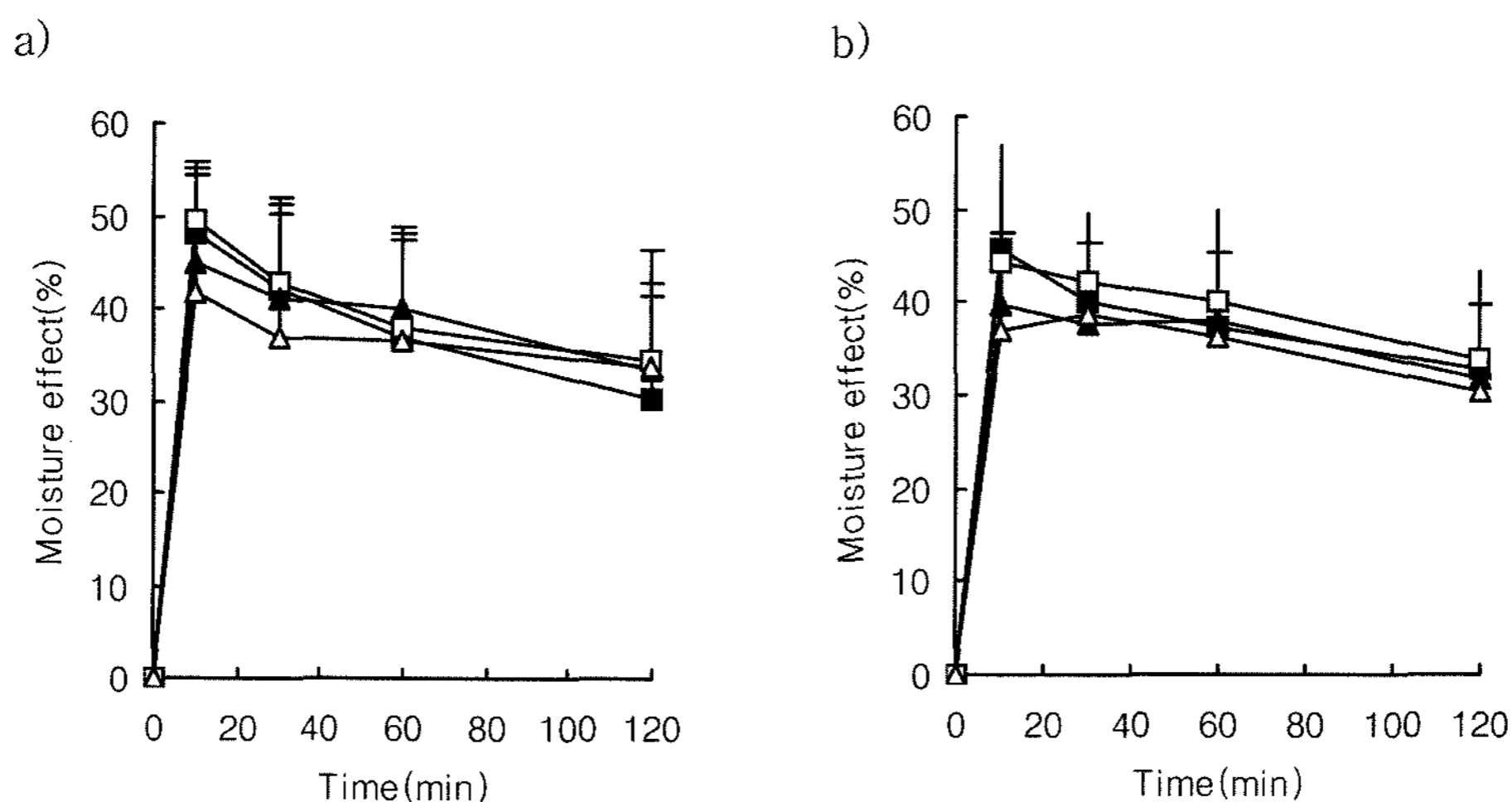


Figure 2—The short term moisture effects of ursolic acid hydrogels in full-thickness skin(a) and stripped skin(b) using Corneometer (Mean±S.D., n=3).

Key ; -■- Formulation A, -□- Formulation B, -▲- Formulation C, -△- Formulation D

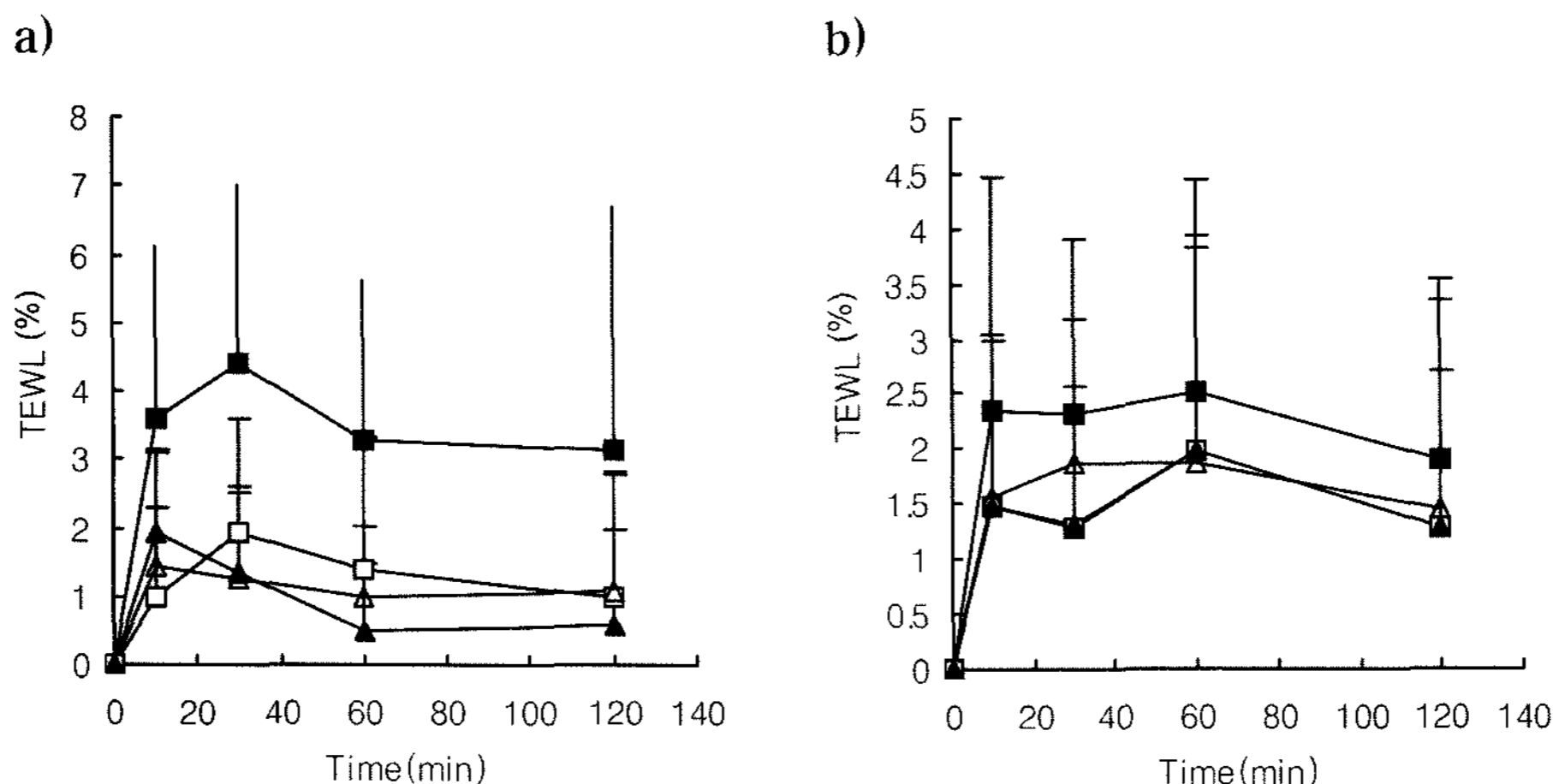


Figure 3—The total epidermal water loss (TEWL) of UA hydrogels in full-thickness skin (a) and stripped skin (b) using Tewermeter (Mean ± S.D., n=3).

Key ; ■- Formulation A, □- Formulation B, ▲- Formulation C, △- Formulation D

피수분손실량은 더 증가하는 것으로 알려져 있지만 적용된 제제가 빠르게 침투한다면 경피수분손실량은 감소되거나 일정하게 유지될 것으로 기대되어진다. 각질이 제거된 피부에 비하여 제거되지 않은 피부에서 약간 더 높은 증발량을 나타내는 것은 각질층이 장벽으로 작용하여 제제의 침투를 저해한다는 것을 간접적으로 나타내주는 결과라 할 수 있다. 상대적으로 각질이 제거된 경우에 더 많이 침투되므로 경피수분 증발량은 낮게 유지되는 것이라 할 수 있다. 따라서 목초액이 첨가되면 각질의 유무에 상관없이 피부 증발량을 막아 보습을 유지하는 기능을 하는 것으로 사료되어진다.

실제적으로 각질, 시간 및 처방은 각각 모두 유의한 수준 ($p < 0.05$)으로 증발량과 보습량에 영향을 미치는 것으로 나타났다. 특히 각질의 유무에 상관없이 목초액을 첨가하지 않은 처방 A보다 목초액이 첨가된 처방 B, C 및 D는 증발량이 억제되어 보습에 영향을 미치는 것으로 나타났다.

따라서 이상의 실험결과를 바탕으로 UA를 함유하는 히드로 겔에 목초액을 적당한 농도 즉 2% 정도로 첨가하면 오랜 시간 동안 보습력을 유지하면서 많은 양이 피부에 침적될 수 있으므로 UA와 같이 피부 노화나 주름 개선 효과가 있는 물질을 피부 적용 제제로 적용할 때 유용한 역할을 할 것으로 기대되어진다.

결론

모델 약물로 피부에 있어서 노화방지 및 주름개선 효과 등에 효과가 있는 UA를 사용하여 다양한 첨가제(1,3-부틸렌 글리콜, 프로필렌글리콜, 글리세린 및 벤질 알코올)과 목초액을 1, 2 및 5%로 첨가하여 산탄 검과 카보폴 혼합 겔을

제조한 후, UA의 피부 침적 및 보습효과를 측정하여 목초액이 피부에 미치는 영향을 검토한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 다양한 첨가제와 목초액을 적당히 조절하면 2시간 동안 40% 정도의 수분 보유능이 우수한 피부 적용제제를 제조할 수 있었다.

2. 각질은 보습량과 증발량에 영향을 미칠 뿐만 아니라 피부 침적에도 영향을 미쳐 각질 제거 후에는 피부 침적에 현저한 차이가 나는 것을 볼 수 있었다.

3. 목초액이 첨가되지 않은 히드로 겔에서 UA는 각질이 제거된 이후 피부 침적량이 감소되었으나 목초액이 첨가된 히드로 겔 처방에서는 비슷한 것으로 보아 UA의 피부 침적의 주된 부위 뿐만 아니라 목초액의 작용부위도 각질층임을 시사하였다.

이상의 실험결과를 바탕으로 UA를 함유하는 히드로 겔에 목초액을 적당한 농도 즉 2% 정도로 첨가하면 오랜 시간 동안 보습력을 유지하면서 많은 양이 피부에 침적될 수 있으므로 UA와 같이 피부 노화나 주름 개선 효과가 있는 물질을 피부 적용 제제로 적용할 때 유용한 역할을 할 것으로 기대되어진다.

참고문헌

- 1) J. Liu, Pharmacology of oleanolic and ursolic acid, *J. Ethnopharmacol.*, **49**, 57-68 (1995).
- 2) T. Mezzetti, G. Orzalesi and V. Bellavita, Chemistry of ursolic acid, *Planta Medica*, **20**, 244-252 (1971).
- 3) D. Rolf, Chemical and physical methods of enhancing transdermal drug delivery, *Pharm. Technol.*, 130-139 (1988).

- 4) O. Wong, Iontophoresis, Fundamentals : *In drug permeation enhancement*, D.S. Hsieh (Ed.), Marcel Dekker, New York, pp. 219-246 (1994).
- 5) D.M. Skauen and G.M. Zenmer, Phonophoresis, *Int. J. Pharm.*, **20**, 235-245 (1984).
- 6) M. Katz and B.J. Poulsen, *In Handbook of experimental pharmacology*, B.B. Brodie and J. Gillette (Eds.), Springer-Verlag, New York, pp. 103 (1971).
- 7) E.R. Cooper : Increased skin permeability for lipophilic molecules, *J. Pharm. Sci.*, **73**, 1153-1156 (1982).
- 8) M.A. Yamane, A.C. Williams and B.W. Barry, Effect of terpenes and oleic acid as skin penetration enhancers towards 5-fluorouracil as assessed with time, permeation partitioning and differential scanning calorimetry, *Int. J. Pharm.*, **116**, 237-251 (1995).
- 9) K. Sato, K. Sugibayashi and Y. Morimoto, Effect and mode of action of aliphatic esters on the *in vitro* skin permeation of nicorandil, *Int. J. Pharm.*, **43**, 31-40 (1988).
- 10) K.I. Seo, K.J. Ha, Y.I. Bae, J.K. Jang and K.H. Shim, Antimicrobial activities of oak smoke flavoring, *Korean J. Postharvest Sci. Technol.*, **7**, 337-341 (2000).
- 11) A. Yasuhara, et al, Volatile compounds in pyrolysing liquids from Karamatu and Chisima-sasa, *Argric. Bio. Chem.*, **51**, 3049-3060 (1987).
- 12) H. Yoshimura, Promoting effect of wood vinegar compounds on the mycelial growth of two Basidiomycete., *Tran. Myco. Soc., Japan*, 141-151 (1993).
- 13) B.Y. Hwang, J.H. Cho, J. H., Y.M. Chin and S. Yoshihiro, Component Analysis of Softwood Vinegar, *J. Kor. For. En.*, **20**, 28-34 (2001).
- 14) K.M. Lee, G.T. Jeong and D.H. Park, Study of antimicrobial and DPPH radical scavenger activity of wood vinegar, *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **19**, 381-394 (2004).
- 15) Y. Mitsuyoshi and U. Genji, By-products of wood carbonization III., *Mokuzai Gakkaishi*, **33**, 521-529 (1987).
- 16) F.Z. Lee, S.H. Choi and J.B. Eun, The nitrite scavenging and electron ability of bamboo smoke distillates made by steel kiln and earth kiln, *Korean J. Food Sci. Technol.*, **34**, 719-724 (2002).
- 17) Y.H. Kim, S.K. Kim, K.S. Kim and Y.H. Lee, Composition of constituents of commercial wood vinegar liquor in Korea, *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.*, **44**, 262-268 (2001).
- 18) N.A. Peppas and E.W. Merrill, PVA hydrogels; Reinforcement of radiation-crosslinked networks by crystallization, *J. Polym. Sci. Polym. Chem., Ed.*, **14**, 441-457 (1976)
- 19) Y. Huang, W. Leobandung, A. Foss and N.A. Peppas, Molecular aspects of muco- and bio-adhesion : The structure and site-specific surfaces, *J. Controlled Release*, **65**, 63-71 (2000).
- 20) J. Kost and R. Range, Properties and applications : *In hydrogels in medicine and pharmacy*, Vol. 3, N.A. Peppas (Eds.), CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 95-186 (1986)
- 21) S.X. Chen and R.T. Lostritto, Diffusion of benzocaine in poly(ethylene-vinyl acetate membranes: Effects of vehicle ethanol concentration and membrane vinyl acetate content, *J. Controlled Release*, **38**, 185-191 (1996).
- 22) B. Hercelin, M. Delauany-Vantrou, F. Alamichel, M. Mazza and J.P. Marty, Pharmacokinetic of cutaneous sulconazole nitrate in the hairless rat: absorption, excretion, tissue concentration, *Drug Metab. Pharmacokinet.*, **18**(2), 149-154 (1993).