

멜라토닌 플라스터의 제제설계 및 평가

곽혜선 · 김승웅 · 전인구[†]

동덕여자대학교 약학대학

(2002년 5월 6일 접수 · 2002년 6월 5일 승인)

Formulation and Evaluation of Melatonin Plasters

Hye Sun Gwak, Seung Ung Kim and In Koo Chun[†]

College of Pharmacy, Dongduk Women's University, Seoul 136-714, Korea

(Received May 6, 2002 · Accepted June 5, 2002)

ABSTRACT—To investigate the feasibility of developing a novel melatonin plaster, the effects of vehicles and drug loading dose on the *in vitro* permeation of melatonin across dorsal hairless mouse skin from pressure-sensitive adhesive (PSA) matrices were examined. Vehicles employed were propylene glycol laurate (PGL), propylene glycol monocaprylate (PGMC) and diethylene glycol monoethyl ether (DGME). Among PSAs used, only Duro-Tak[®] 87-2196 showed a good peeling property. The release from Duro-Tak[®] 87-2196 was proportional to the square root of time, and dose-dependent. The fluxes increased as the loading dose increased over the doses under solubility. The relatively high permeation flux ($3.03 \pm 1.37 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr}$) was obtained when using PGMC at the melatonin loading dose of $45 \text{ mg}/140 \text{ cm}^2$. Lag time was not affected by the vehicles used but by the thickness spread. The melatonin plasters prepared using PGMC showed a good adhesive property onto skin, and showed no crystal formation.

Keywords—Melatonin, Pressure-sensitive adhesive matrices, Vehicles, Release, Permeation

멜라토닌은 포유동물의 송과선에서 분비되는 호르몬으로서¹⁾ circadian rhythm에 따라 분비가 조절되는 광주기적 특성을 지닌다.^{2,3)} 혈장 중 멜라토닌의 농도는 밤 9시경에 증가하기 시작하여 새벽 2-4시 사이에 최대에 달하며 아침 7-9시 사이에 원래의 농도로 돌아온다.⁴⁾ 멜라토닌은 수면유도 작용이 있어 장시간 비행 후의 jet lag 및 피로감,^{5,6)} 계절성 질환, shift work syndrome 등에 임상적 효과가 있다고 보고되었으며, 특히 노년층에서는 REM 수면에 영향을 미치지 않고 노년의 수면장애를 개선하는 효과가 있음도 보고된 바 있다.^{7,8)} 그러나 멜라토닌은 경구투여시 초회통과를 심하게 받고 반감기가 약 45분으로 짧아 생체이용률이 낮고 변동이 크다.^{9,10)} 따라서 혈장농도를 생체리듬에 맞게 유지할 수가 없고¹¹⁾ 제어방출 기법을 사용하는 경우에도 그 생체이용률이 20% 정도에 불과한 것으로 보고되었다.¹²⁾ 그러므로 멜라토닌의 임상적 적용을 위해서는 간에서의 초회통과효과를 피할 수 있고 장시간 동안 일정한 혈중농도를 유지해 줄 수 있으며 신속한 흡수와 제거 후 피부내 저류를 최소화할 수 있는 새로운 경피흡수제제의 설계가 요구된다.¹³⁻¹⁵⁾ 이를 위

해 용액처방으로부터 hairless mouse 적출피부를 통한 투과 양상을 이미 검토한 바 있으며¹⁶⁾ 그 결과를 토대로 하여 최적의 용제조건과 처방을 설계하여 아크릴계 피부점착제를 사용하여 여러 조성으로 플라스터를 제조하고 이로부터 약물 방출의 특성과 적출 피부투과 특성을 검토하였다.

실험방법

실험동물

Hairless mouse(7-8주령, 수컷)는 삼육실험동물연구소(경기도, 오산시)에서 구입하여 1주 이내에 사용하였다.

시료 및 시약

멜라토닌과 메칠파라벤(MP)은 Sigma Chemical Co. (USA)에서 구입한 것을 사용하였다. 용제로는 프로필렌글리콜라우레이트(PGL, Lauroglycol[®]), 프로필렌글리콜모노노카프릴레이트(PGMC, Capryol[®] 90), 디에틸렌글리콜모노에틸에텔(DGME, Transcutol[®] P) (Gattefossé, France)을 사용하였다. 메탄올은 HPLC급을 사용하였다. 물은 정제수를 가지고 초순수제조장치(Elgastat, London)를 통과시켜 18 M Ω 이상인 것을 썼다. 감압 점착제(pressure-sensitive adhesive, PSA)로는

[†]본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
Tel : 02)940-4523, E-mail : ikchun@dongduk.ac.kr

Duro-Tak[®] 87-2196(copolymer: acrylate-vinylacetate, functional group: -COOH, 45% solution of self-crosslinking acrylic copolymer, 3000 cps, solubility parameter 16), Duro-Tak[®] 87-2100(copolymer: acrylate, functional group: -COOH, 51.5% solution of self-crosslinking acrylic copolymer, 8500 cps, solubility parameter 16) and Duro-Tak[®] 87-2510(copolymer: acrylate, functional group: -OH, 40.5% solution of non-crosslinking acrylic copolymer, 4500 cps, solubility parameter 16)을 National Starch and Company(USA)로부터 제공받아 사용하였고 기타 시약은 시판 시약급을 사용하였다.

기기 및 장치

액체크로마토그래프(Perkin Elmer series 310, 검출기로 Perkin-Elmer LC 90 UV detector 및 기록장치로 Varian model, 4290 integrator 장착), Valia-Chien 투과시스템(Crown Bio Scientific, Inc., USA), 180° 박리강도측정기(Universal Testing Machine, Hounsfield, England) 등을 사용하였다.

멜라토닌의 HPLC 분석조건

칼럼으로는 Radial Pak insert(C₁₈, Waters)가 장착된 μ Bondapak C₁₈ 칼럼(10 μ m, 3.9 \times 300 mm, Waters)을 사용하고, 이동상으로는 메탄올 · 물 혼합액(50 : 50 v/v)을 써서 유속 1.2 ml/min으로 유출시켜 파장 229 nm에서 검출하여 얻은 크로마토그램의 피크면적비로부터 정량하였다. 내부표준

용액으로는 MP의 50% 메탄올 용액(50 μ g/ml)을 사용하였다.

멜라토닌 플라스터의 제조

Table I과 같이 멜라토닌을 달아 용제에 녹이고 PSA 용액과 고르게 섞은 후 실리콘 처리된 박리지(Gelroflex ALU-PET 100 μ -2S DR, 3M, USA, 폴리에스텔 필름의 한쪽 면에 알루미늄 코팅을 하고 다시 양면을 실리콘 처리한 은색 박리지, 무게 140 \pm 7 g/m², 두께 95-106 μ m)를 13 cm 넓이로 절단하여 유리판 위에 수평으로 고정하고 수동식 도포기(film casting machine, W100 mm, 0.01 mm, Sheen)를 사용하여 가로 10 cm, 세로 14 cm의 길이로 도포하였다. 도포물은 실온에서 4시간 방치하여 용제를 휘산시키고, 37°C에서 하룻밤 방치하여 건조한 후 지지체(Scotchpak 1109, 3M, USA, 저알레르기 유발성의 살색 폴리에스텔 박층 필름)를 밀착시켜 제조하였다.

제조된 플라스터의 약물층 두께 측정

두께 측정기(0.01 mm, microdial gauge, Mitutoyo, Japan)로 박리지, 지지체가 붙어 있는 상태로 플라스터의 전체 두께를 3회 측정 후 박리지, 지지체 단독의 두께를 따로 측정하여 합하고 이를 전체 두께에서 빼어 그 차로부터 약물 함유 점착제 층의 두께로 하고 평균 두께로 나타내었다.

제조된 플라스터의 약물층 무게 측정

박리지, 지지체가 붙어 있는 상태로 플라스터를 2 \times 2 cm

Table I—Formulation compositions for the preparation of melatonin plasters

FN	Dose loaded (mg/ml)	Vehicle used	Amount of vehicle (ml)	PSA used	Amount of PSA (g)	Thickness spread (mm)	Drug solution: PSA
01	20	Co-solvent	1.0	2196	4	0.51	1 : 4
02	20	Co-solvent	1.0	2287	4	0.51	1 : 4
03	20	Co-solvent	1.0	2510	4	0.51	1 : 4
04	5	Co-solvent	1.0	2196	4	0.51	1 : 4
05	10	Co-solvent	1.0	2196	4	0.51	1 : 4
06	30	Co-solvent	1.0	2196	4	0.51	1 : 4
07	40	Co-solvent	1.0	2196	4	0.51	1 : 4
08	20	Co-solvent	0.5	2196	4	0.46	0.5 : 4
09	20	Co-solvent	1.5	2196	4	0.56	1.5 : 4
10	5	PGL	1.0	2196	4	0.51	1 : 4
11	10	PGL	1.0	2196	4	0.51	1 : 4
12	15	PGL	1.0	2196	4	0.51	1 : 4
13	15	PGMC	1.0	2196	4	0.51	1 : 4
14	30	PGMC	1.0	2196	4	0.51	1 : 4
15	45	PGMC	1.0	2196	4	0.51	1 : 4

Co-solvent is the 8 : 2 ratio of PGL and DGME. FN: formulation number.

크기로 정확히 3 조각씩 절단하여 전체 무게를 정밀하게 단 후 박리제, 지지체의 무게를 따로 측정하여 합하고 이를 전체 무게에서 빼어 그 차를 약물 함유 점착제 층의 무게로 하여 단위면적당 평균무게(mg/cm^2)로 나타내었다.

제조된 플라스터의 약물함량 측정

제조된 플라스터로부터 가로, 세로 각각 2 cm 크기로 3 조각씩 잘라 박리지를 벗겨낸 후 Kim wipes를 잘라 매트릭스 점착면에 가볍게 덮고 용기의 기벽에 부착되는 것을 차단하였다. 100 ml 용량플라스크에 메탄올을 각각 50 ml씩 넣은 다음 준비한 플라스터 절편을 넣고 90분 이상 sonication 시켜 멜라토닌을 추출해 낸 후 물을 넣어 100 ml로 하여 0.2 μm 멤브레인 필터로 여과하였다. 여액 150 μl 에 내부표준액 150 μl 를 넣어 섞고 그 20 μl 를 HPLC에 주입하여 얻은 크로마토그램의 피크면적비로부터 멜라토닌 표준액(20 $\mu\text{g}/\text{ml}$)의 피크면적비와 비교하여 단위 면적당 함량을 측정하였다.

점착력 시험

제조한 플라스터의 점착력은 Kim 등¹⁷⁾의 방법에 따라 측정하였다.

멜라토닌 플라스터로부터 방출시험

제조된 플라스터를 1.5x1.5 cm 넓이로 각각 2개씩 잘라 박리지를 떼어내고 약물 함유 점착제층을 Valia-Chien 투과시스템에 마운팅하였다. 시험액으로 0.02 M 인산염 완충액(pH 6.8) 3.5 ml를 각각 넣은 후 32±0.5°C의 항온을 유지하면서 24시간 동안 magnetic stir-head bar로 교반하였다. 0.5, 1, 2, 3, 5, 7, 12 및 24시간 간격으로 100 μl 씩을 취하여 내부표준액 100 μl 와 섞고 이 액 20 μl 를 HPLC에 주입하여 얻은 크로마토그램의 피크면적비로부터 멜라토닌 표준액(20 $\mu\text{g}/\text{ml}$)의 피크 면적비와 비교하여 누적 방출량을 구하였다.

Hairless mouse 피부 적출

7-8주령 된 hairless mouse 수컷의 등쪽 피부를 적당한 크기로 적출하여 사용하였다. 먼저 hairless mouse를 테시케이터 내에서 에틸로 마취사시켜 수술대 위에 고정시킨 다음 각질층이 손상되지 않도록 조심스럽게 피하지방, 조직 및 혈관 등을 제거하였다. 적출한 피부는 적절한 크기로 자른 후 즉시 투과시험에 사용하였다.

멜라토닌 플라스터의 적출 피부 투과시험

Hairless mouse 적출피부의 등쪽에 제조한 플라스터를 밀

착시켜 첨부하고 32°C로 유지된 Valia-Chien 투과시스템에 마운팅한 다음 receptor cell에는 PEG 400의 생리식염수액(40%) 3 ml씩을 넣었다. 경시적으로 2, 4, 6, 8, 12 및 24 시간마다 receptor cell로부터 투과액 100 μl 씩 취하고 즉시 receptor solution으로 보충하였다. 투과액 100 μl 를 내부표준액 100 μl 와 섞고 이 액 20 μl 를 HPLC에 주입하여 얻은 크로마토그램의 피크면적비로부터 멜라토닌 표준액(20 $\mu\text{g}/\text{ml}$)의 피크 면적비와 비교하여 투과량을 산출하였다.

결과 및 고찰

멜라토닌 플라스터의 방출특성

Table I과 같이 제조된 플라스터를 가지고 박리시험을 하였을 때 Duro-Tak[®] 87-2196을 사용한 경우 박리지가 양호하게 벗겨졌으나, Duro-Tak[®] 87-2510과 87-2287은 응집력의 저하로 인해 끈적끈적한 점착성 물질로 되고 지지체와 박리지 양측에 부착되어 박리가 곤란하였다. 따라서 점착제로 Duro-Tak[®] 87-2196을 사용하여 멜라토닌의 방출양상을 검토하였다. Figure 1은 용제로 PGL-DGME(8 : 2 v/v)를 사용한 경우를 나타낸 것이다. 여기에서 방출량이 시간의 제곱근에 비례하는 matrix-controlled diffusion model ($Q=kt^{1/2}$, Q: amount released, k: release rate constant)¹⁸⁾을 따르는 것으로 나타났다. 또한 loading dose에 대해 위 직선식의 기울기를 그래프로 나타내었을 때에는 Figure 2에서와 같이 직선적인 상관관계($r^2=0.988$)가 있음을 보여주었다. PGL 및 PGMC 단일 용제를 사용한 경우에도 loading dose에 대한 약물의 방출속도($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr}^{1/2}$) 간의 R^2 값이 각각 0.997 및 0.993으로 직선적인 관계를 나타내었다. 이처럼 여러 용제 중의 약물의 방출양상이 용량 의존적인 양상을 보이는 결과

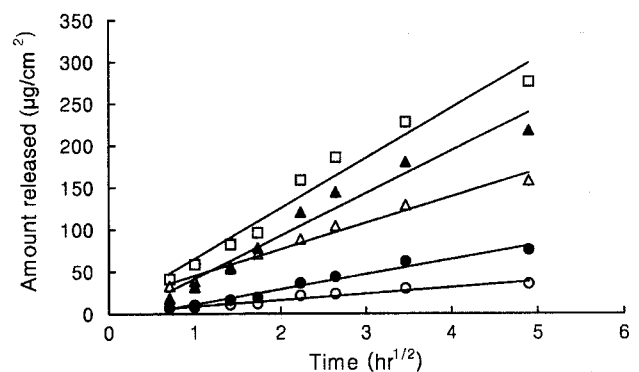


Figure 1—The release of melatonin from PSA matrix plasters containing PGL-DGME (8 : 2 v/v) following matrix-controlled diffusion model (n=3). ○: 5 mg/140 cm², ●: 10 mg/140 cm², △: 20 mg/140 cm², ▲: 30 mg/140 cm², □: 40 mg/140 cm².

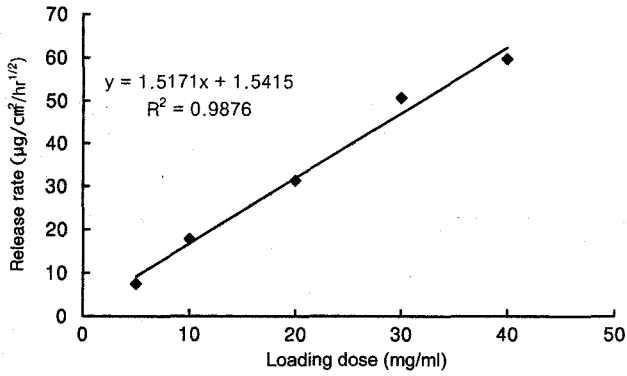


Figure 2—Effect of loading dose on the release of melatonin from PSA matrix plasters containing PGL-DGME (8 : 2 v/v) (n=3).

로부터 경피투과시 피부투과가 양호하게 이루어지는 경우 매트릭스내 약물이 용량 의존적으로 이용될 수 있음을 보여 주었다.

한편, 용제로 PGL-DGME(8 : 2 v/v)를 사용하고 약물농도를 1 mg/ml로 녹이고 각각 0.5, 1, 1.5 ml의 용량을 4 ml의 PSA에 섞은 후 도포두께를 0.46, 0.51 및 0.56 mm로 한 FN 8, 1, 9의 방출양상을 비교한 결과 24시간대 방출량은 각각 126.0±9.6, 157.9±4.5 및 121.2±8.6 µg/cm²로 나타나 약물함유 용액의 양 및 도포 두께와 방출간에는 유의적인 상관관계가 나타나지 않음을 알 수 있었다.

멜라토닌 플라스터의 적출 피부투과 특성

용액처방으로부터 멜라토닌의 경피흡수 양상을 실험한 연구결과¹³⁾로부터 양호한 피부투과 촉진효과를 보여 준 PGL, PGMC 및 PGL-DGME(8 : 2 v/v)를 사용하고 loading dose를 달리하여 플라스터를 제조하였다. Table II는 PGL과 PGMC를 각각 사용하여 loading dose가 투과 flux 및 lag time에 미치는 영향을 나타낸 것이다. 공용제로 PGL-DGME (8 : 2 v/v)를 사용하고 용제 중 멜라토닌의 농도를 5~40

Table II—Effect of loading dose on the permeation flux and lag time of melatonin across excised hairless mouse skin from PSA matrix plasters containing either PGL or PGMC

FN	J _s (µg/cm²/hr)	T _L (hr)
10	0.25 ± 0.05	2.94 ± 0.20
11	0.37 ± 0.03	1.83 ± 0.66
12	0.77 ± 0.13	2.23 ± 0.44
13	0.84 ± 0.24	1.56 ± 1.25
14	1.09 ± 0.64	1.15 ± 0.48
15	3.03 ± 1.37	2.62 ± 0.38

Data were expressed as the mean ± S.D. (n = 3). J_s: steady state flux, T_L: lag time, FN: formulation number.

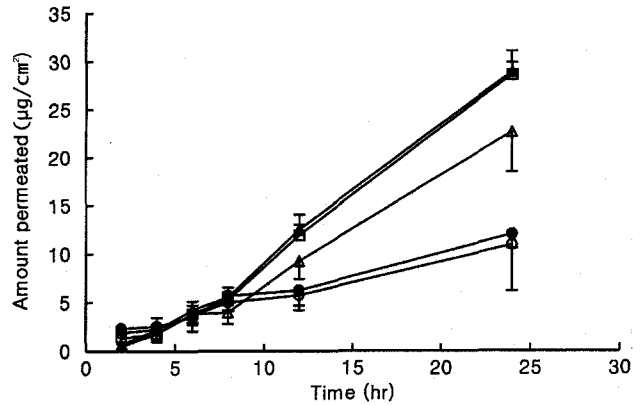


Figure 3—Effect of loading dose on the permeation of melatonin through hairless mouse skin from PSA matrix plasters containing PGL-DGME co-solvent (8 : 2 v/v) (n=3). ○: 5 mg/140 cm², ●: 10 mg/140 cm², △: 20 mg/140 cm², ▲: 30 mg/140 cm², □: 40 mg/140 cm².

mg/ml로 변화시켰을 때의 투과양상을 Figure 3에 나타내었다. 공용제 중 멜라토닌 농도가 5, 10, 20, 30 및 40 mg/ml로 증대됨에 따라 24시간대 투과량은 10.9±4.7, 12.0±1.5, 22.6±4.1, 28.9±2.1 및 28.6±1.3 µg/cm²로 변화하였다. 농도가 5 mg/ml에서 30 mg/ml로 증대됨에 따라 투과량이 증대되었는데 이는 포화도가 점차 높아져 열역학적 활성도가 커지기 때문으로 생각된다. 그러나 30 mg/ml 이상에서는 24시간대 투과량에 별다른 차이가 없었는데 이는 포화농도 (35 mg/ml, 32°C)¹³⁾ 이상에서는 열역학적 활성도가 최대로 되어 투과속도가 거의 일정하기 때문인 것으로 생각된다. 단일 용제로 PGL을 사용하여 용량을 5, 10 및 15 mg/ml로 하여 제조한 플라스터에서의 24시간대 투과량은 5.7±1.5, 10.3±0.2 및 18.1±3.3 µg/cm²로 용량 의존적인 증가를 보였다. 용해력이 더 큰 PGMC(41.7 mg/ml)¹³⁾에서도 멜라토닌의 용량을 15, 30 및 45 mg/ml로 증대시켰을 때의 24시간대 투과량은 19.9±7.5, 24.6±14.8 및 65.1±29.8 µg/cm²로 투과량이 용량 의존적으로 증가하였다. 이러한 결과는 경피 약물송달시스템의 설계에서 용량의 조절로 필요한 혈중농도의 달성이 가능함을 제시하는 것이다.

한편, 약물함유 용액의 양과 도포 두께가 투과에 미치는 영향에 있어서는 FN 8, 1, 9의 투과 flux가 각각 0.58±0.18, 0.93±0.14 및 0.89±0.11 µg/cm²/hr로 약물 함유 용액의 양 및 도포 두께와 투과 flux간에는 유의적인 상관관계가 나타나지 않았으나 lag time은 0.88±0.22, 2.08±0.65 및 2.11±0.93 hr으로 나타나 lag time이 작아지는 경향을 보였는데 이는 동일 양의 약물 용액에 대한 PSA의 양이 작아 두께가 얇을수록 매트릭스로부터 초기약물확산이 빨리 일어난 때문으로 생각된다.

Table III—Physical properties of melatonin plasters containing PGMC

FN	Thickness (μm)	Weight (mg/cm ²)	Drug content assayed (μg/cm ²)	Peeling strength (g force/12 mm)
13	16.7 ± 2.2	34.7 ± 2.2	220 ± 11	254 ± 33
14	16.5 ± 1.5	34.5 ± 1.5	431 ± 21	257 ± 42
15	15.9 ± 1.7	33.9 ± 0.2	645 ± 27	265 ± 41

Data were expressed as the mean ± S.D. (n=3). FN: formulation number.

멜라토닌 플라스터의 물성 평가

PGMC를 용제로 하여 용량별로 3종의 멜라토닌 플라스터를 제조하여 단위 면적 당 두께, 중량, 함량, 결정생성 및 박리강도 등을 평가하였다. Table III에 나타난 바와 같이 점착제 조성 중 약물의 용량 증가는 전체적인 플라스터의 두께와 중량에 영향을 주지 않았다. 약물의 평균함량은 도포 두께가 0.51 mm일 때의 것으로 용량 증가에 따라 단위 면적 당 함량이 용량 의존적으로 증가되었다. 제조 후 실온 방치 하에 1주일 경과한 후 점착제 층을 현미경으로 관찰한 결과 결정이나 침전 등의 생성은 전혀 관찰되지 않았다. 이러한 결과는 용제 중 용해성이 낮거나 loading dose가 높은 경우 경시보존 중 흔히 일어날 수 있는 결정 성장에 따른 방출 및 투과 감소의 문제점이 없을 것으로 생각된다.

점착제는 사용 시 박리지를 제거할 때 점착제가 박리지에 묻어 나오거나 사용 후 피부로부터 떼어낼 때 피부로부터 양호하게 떨어져 나와야 한다. 이를 위해서는 점착제가 적절한 점착력과 응집력의 균형을 이루어야 한다. 피부에 대한 점착력은 경피적용시스템의 플라스터에서는 12시간 또는 그 이상의 기간에 걸쳐 양호한 밀착상태를 유지할 필요가 있으며 피부로부터의 수분이나 지방 등 분비물 및 기계적 운동 등에 의해 점착력이 감소되어 일부 들뜨거나 쉽게 벗겨져서는 안된다. 이러한 점착력 정도의 기준치는 보통 150 g force/12 mm인 것으로 알려져 있다. 비교로 측정된 케토톱의 점착력(박리강도)은 187 ± 9 g force/12 mm로 나타난 반면 이 연구의 멜라토닌 플라스터 3종의 점착력은 다소의 편차는 있으나 모두 250 g force/12 mm 이상으로 나타나 용량에 관계없이 점착력이 매우 양호하였다. 부위별로 점착력에 편차가 있는 것은 용매의 휘산 과정에서 생긴 기포형성에 기인하는 것으로 자동도포법과 건조방법의 검토로 기포형성은 억제될 수 있다고 생각된다.

결 론

멜라토닌의 경피흡수제제 개발 가능성을 검토하고자 PSA 매트릭스형 플라스터를 제조하여 약물방출 및 피부투과 등

제제학적 특성을 평가하여 얻은 결론은 다음과 같다.

1. 감압점착성 매트릭스로서는 Duro-Tak[®] 87-2196이 점착력 및 박리력 측면에서 적합하였다.
2. 용제로 PGL, PGMC 및 PGL-DGME(8 : 2 v/v)을 사용하여 멜라토닌을 각각 5~15 mg/140 cm², 15~45 mg/140 cm² 및 5~40 mg/140 cm²이 되도록 제조한 각 플라스터로부터의 방출은 24시간까지 용량 의존적으로 지속되었다.
3. 감압점착성 매트릭스 플라스터로부터 적출 hairless mouse 피부를 통한 멜라토닌의 투과는 매트릭스 중 멜라토닌의 농도에 의존하여 증가하였다. 용량과 용제를 적절히 조합함으로써 멜라토닌의 경피약물 송달의 조절이 가능하였다. PGMC를 용제로 하여 45 mg/140 cm²을 함유하는 플라스터로부터의 적출피부 투과 flux는 3.0 ± 1.4 μg/cm²/hr이었다.
4. 동일한 양의 PSA에 섞인 약물 함유 용액의 양과 도포 두께는 약물의 방출과 투과 flux에는 영향을 주지 않았으나 lag time에 대해서는 비례적인 관계를 나타내었다.
5. 제조한 멜라토닌 플라스터는 두께와 중량이 균일하였으며 양호한 점착력을 지녔고, 경시적인 침전형성이나 결정 생성 등은 나타나지 않았다.

문 헌

- 1) A.B. Lerner, J.D. Case, Y. Takahashi, T.H. Lee and W. Mori, Isolation of melatonin, the pineal gland factor that lightens melanocytes, *J. Am. Chem. Soc.*, **80**, 2587 (1958).
- 2) B.K. Fung, Transducin: structure, function, and role in phototransduction. In: *Progress in Retinal Research*, Vol. 6; Osborn NN, Chader GJ, eds. Pergamon Press: Oxford, England, pp. 151-177.
- 3) B. Pangerl, A. Pangerl and R.J. Reiter, Circadian variations of adrenergic receptors in the mammalian pineal gland: a review, *J. Neural. Transm. Gen. Sect.*, **81**, 17-29 (1990).
- 4) A. Brezinski, Mechanisms of disease: melatonin in humans, *N. Eng. J. Med.*, **336**, 186-195 (1997).
- 5) J. Arendt, Melatonin, *Br. Med. J.*, **312**, 1242-1243 (1996).
- 6) K. Petrie, A.G. Dawson, L. Thompson and R. Brook, A double-blind trial of melatonin as a treatment for jet lag in international cabin crew, *Biol. Psych.*, **33**, 526-530 (1993).
- 7) D. Garfinkel, M. Laudon, D. Nof and N. Zisapel, Improvement of sleep quality in elderly people by controlled release melatonin, *Lancet*, **346**, 541-544 (1995).
- 8) I.V. Zhadanova, R.J. Wurtman, H.J. Lynch, J.R. Ives, A.B. Dollins, C. Morabito, J.K. Matheson and D.L. Schomer, Sleep-inducing effects of low doses of melatonin ingested in the evening, *Clin. Pharmacol. Ther.*, **57**, 552-558 (1995).
- 9) F. Waldhauser, M. Waldhauser, H.R. Liebermann, M.H. Deng, H.J. Lynch and R.J. Wurtman, Bioavailability of oral melatonin in humans, *J. Neuroendocrinol.*, **39**, 307-313

- (1984).
- 10) E.A. Lane and H.B. Moss, Pharmacokinetics of melatonin in man: first pass hepatic metabolism, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **61**, 1214-1216 (1985).
 - 11) A.L. Poulton and M.J. Kelly, Plasma melatonin concentrations in eyes following administration of an intraluminal soluble glass/melatonin bolus, *J. Controlled Release*, **7**, 159-163 (1988).
 - 12) B.J. Lee and G.H. Min, Oral controlled release of melatonin using polymer reinforced and coated alginate beads, *Int. J. Pharm.*, **144**, 37-46 (1996).
 - 13) H.J. Oh, Y.K. Oh and C.K. Kim, Effect of vehicles and enhancers on transdermal delivery of melatonin, *Int. J. Pharm.*, **212**, 63-71 (2001).
 - 14) H.S. Gwak and I.K. Chun, In vitro percutaneous of absorption of tenoxicam from pressure sensitive adhesive matrices across the hairless mouse skin, *Arch. Pharm. Res.*, **24**, 578-583 (2001).
 - 15) H.S. Gwak and I.K. Chun, Effect of vehicles and penetration enhancers on the in vitro percutaneous absorption of tenoxicam through hairless mouse skin, *Int. J. Pharm.*, **236**, 57-64 (2002).
 - 16) H.S. Gwak, S.U. Kim and I.K. Chun, Effect of vehicles and enhancers on the in vitro permeation of melatonin through hairless mouse skin, *Arch. Pharm. Res.*, submitted, pp. 392-396 (2002).
 - 17) T.S. Kim and I.K. Chun, Formulation and evaluation of loxoprofen plasters, *J. Appl. Pharmacol.*, **9**, 298-306 (2001).
 - 18) Y.W. Chien and H.J. Lambert, Controlled drug release from polymeric delivery devices II: differentiation between partition-controlled and matrix-controlled drug release mechanism. *J. Pharm. Sci.*, **63**, 515-519 (1974).