

멜라토닌이 함유된 다층 코팅 펠렛의 방출 및 특성분석

강복기 · 강길선 · 김종민* · 정상영** · 이해방** · 조선행**†

전북대학교 고분자공학과, *전북대학교 유기신물질공학과, **한국화학연구원 생체의료고분자팀
(2003년 5월 21일 접수 · 2003년 8월 20일 승인)

Release and Characterization of Multiple Coated Pellets Containing Melatonin

Bok Ki Kang, Gilson Khang, Jong Min Kim*, Sang Young Jeung**, Hai Bang Lee** and Sun Hang Cho**†

Department of Polymer Science and Technology, Chonbuk National University, 664-14, Duckjin Jeonju 561-756, Korea

*Department of Advanced Organic Materials Engineering, Chonbuk National University, 664-14, Duckjin Jeonju 561-756, Korea

**Nanobiomaterials Laboratory, Korea Research Institute of Chemical Technology, P. O. Box 107, Yuseong, Daejeon 305-600, Korea

(Received May 21, 2003 · Accepted August 20, 2003)

ABSTRACT—Melatonin (MT) is an indole amide pineal hormone. It has not only very short half-life but also pH-sensitive property. The sustained release dosage form which delivers MT in a circadian fashion over 8 h is clinical value. The purpose of this study is to prepare sugar beads using multiple coating methods and enteric-coated in a sustained release to evaluate *in vitro* release characteristics in simulated gastric and intestinal fluids. The Eudragit® as a polymer, sustained release membrane, and triethylcitrate (TEC) as a plasticizer were used. Multi-coated melatonin delivery system was composed of sugar, various excipients, Eudragit® and enteric materials (e.g. hydroxy propyl methyl cellulose phthalate, HPMCP), and prepared by fluid bed coater. The dissolution test was carried out using the basket method at a stirring speed of 100 rpm at 37°C in simulated gastric (pH 1.2) and intestinal fluid (pH 7.4). The released amount of MT was determined by High performance liquid chromatography method. The morphologies of surface and cross section of multi-coated beads were observed by scanning electron microscope. Size of multi-coated sugar beads was ranged over 1000~1300 µm. The release rate of MT from coated beads was limited in simulated gastric fluid (pH 1.2), but it was sustained in intestinal fluid (pH 7.4) during 3~8 hours. The MT beads may provide small-intestine-targeted device for oral delivery. Studies on animal and relative experiment are in process.

Key words—Melatonin (MT), Multi-coated beads, Enteric coating, Control release

질병 치료를 위한 약물전달시스템은 치료부위에 약물을 효율적으로 전달함으로써 약물의 부작용을 줄이고, 약물에 대한 환자의 순응도를 높이며, 효능 및 효과를 극대화할 수 있도록 제형을 설계하여 약물치료를 최적화하는 기술을 말한다. 이러한 약물전달시스템을 이용한 경피, 비강 및 경구제제 등과 관련된 제제의 제조 및 효능에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다.¹⁻⁹⁾ 멜라토닌은 포유동물의 송과선에서 분비되는 호르몬으로서¹⁰⁾ circadian rhythm에 따라 분비가 조절되는 광주기적 특성을 지니며,^{11,12)} 5-메톡시-N-아세틸-트립타민으로 명명되어진다. 혈장 중 멜라토닌의 농도는 밤 9시경에 증가하기 시작하여 새벽 2-4시 사이에 최대에 달하며 아침 7-9시 사이에 원래의 농도로 돌아온다.¹³⁻¹⁶⁾ 멜라토닌은 수면유도 작용이 있어 장시간 비행후의 jet lag 및 피로감, 계절성 질환, shift work

syndrome 등에 임상적으로 효과가 있다고 보고된바 있으며,^{17,18)} 특히 노년층에서는 REM 수면에 영향을 미치지 않고 노년의 수면장애를 개선하는 효과가 있음도 보고된 바 있다.^{19,20)} 일반적인 멜라토닌 제제의 경우 간에서 초회 통과를 피하고자 경피흡수제제가 설계되고 있다.²¹⁻²³⁾ 그러나 경피제제의 경우 흡수율이 매우 낮으므로, 본 연구에서는 멜라토닌을 함유한 펠렛 제제를 설계하였다. 또한 멜라토닌은 위액에서 보다 장액에서 solubility가 더 증가함으로 장에서 타깃팅되었을 때 생체이용율이 더욱 증가되며,²⁴⁾ 이러한 제제를 액상의 에멀전 제제 혹은 드링크제에 혼합한 과립형제제²⁵⁾를 설계하여 약물이 소장에서 방출할 수 있도록 다층 코팅법을 이용한 장용피 코팅 제제의 펠렛을 설계하였다. 이는 결정성 핵물질, 핵물질의 외면을 구형으로 하기 위한 코팅층, 유효물질로서 멜라토닌을 함유하는 유효성분층과, 상기 멜라토닌을 서방형으로 방출시키기 위한 서방성층,²⁶⁾ 경구 투여 후 위산에 의한 멜라토닌의 분해를 방지하기 위한 장용성층을 포함하는 다층으

†본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
Tel : 042)860-7225, E-mail : shcho@kriect.re.kr

로 구성되어진다.²⁷⁾ 이러한 구성으로 인하여 위장에서는 멜라토닌의 분해를 방지하고, 소장에서 멜라토닌의 흡수를 극대화시킬 수 있도록 하였다.

본 연구의 목적은 호르몬제의 일종인 멜라토닌을 이용하여 1일 복용횟수를 감소시켜 복용순응도를 높일 수 있는 서방형 과립제제를 설계하고, 경구용 제제의 생체의 방출 실험과 저장 안정성 실험을 통하여 멜라토닌을 함유한 과립의 최적의 투약조건을 찾고자 하는 것이다.

실험 방법

시료 및 시약

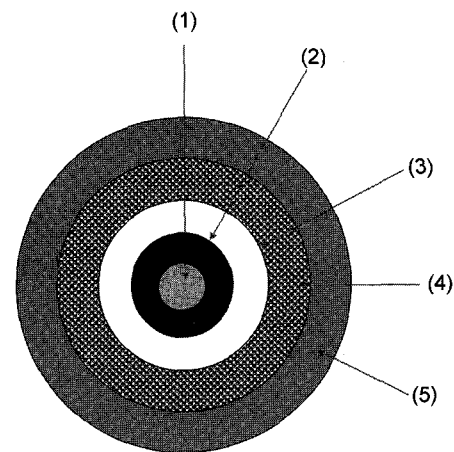
본 실험에서는 멜라토닌 (Zhejiang Hengdian Imp. & Exp. Co. Ltd., China)을 모태약물로 선정하였으며, 서방형 유도막으로는 유드라짓® (RS 100, RL 100, NE 30D)를 덕우상사(Korea)에서 구입하였다. 이외의 시약으로는 하이드록시프로필메틸 셀룰로오스(HPMC 2910, BR Good Rich Chem. Co., USA), 폴리에틸렌글리콜(PEG 6000, Junsei Chemical Co., Japan), seed 물질로 사용한 설탕(Samyang Co., Korea)은 메쉬를 이용하여 325~425 µm의 일정한 크기로 선별하여 사용하였다. 또한 전분(corn) (대상, Korea), 탈크, Triethyl citrate (덕우상사, Korea), 트리아세틴(Yakuri Pure Chemical Co., Ltd, Japan)과 Acetone (Junsei Chemical Co., Japan), Ethanol (Junsei Chemical Co., Japan), Acetonitrile (HPLC용, Tedia Co. Inc., USA), 0.22 µm membrane filters (Millex®, Millipore Co., USA) 및 기타 시약들은 특급 및 1급 시약을 사용하였다.

기기

멜라토닌을 함유한 과립을 제조하기 위해 fluid bed coater (Uniglatt®, Glatt Co., Germany)를 사용하였다. 약물의 방출을 유도하기 위해 용출기 (DST-200, 화인기기, Korea)를 사용하였으며, 약물의 표면 및 절단부위를 관찰하기 위해 scanning electron microscope (SEM, S-2250N, Hitachi Co., Japan)를 이용하였다. HPLC를 통한 용출률 및 함량 측정은 UV 검출기(UVIS-201, Linear Instrument, USA), 펌프(Thermo Separation® Products, P2000, USA), injector (Rheodyne No. 7725i, USA), autosampler (TSP, AS 3000, USA)를 사용하였고, 원심분리기(Union32R, 한일, Korea), vortex mixer (Type 16700, Thermolyne, USA), pH meter (corning 340, USA), laboratory draw-down coater (LC-100, Cheminstruments, USA)를 사용하였다.

서방형 과립의 제조

멜라토닌을 함유한 서방형 과립은 다층으로 구성되어지는 데, 각각의 구성되어지는 층은 결정성 핵(설탕), 전분이 함유된 공과립 제조층, 멜라토닌 약물이 포함된 약물 함유 내피층, 그리고 약물 방출을 조절하는 외피층 기체로서 유드라짓이 포함된 약물 함유 서방성층, 위액에서 약물의 방출을 지연하고, 장액에서 방출하는 장용피 코팅층으로 이루어졌다 (Figure 1). 먼저 설탕과 같은 결정성 씨드에 결합제인 HPMC, 가소제로 PEG 6000, 그리고 부형제로서 전분을 이들의 용매인 water, ethanol, acetone에 용해 또는 분산시켜 코팅하였다. 코팅에 사용된 조성물질의 양을 Table I에 나타내었으며, 코팅기의 코팅조건을 Table II에 나타내었다. 일정한 크기로 구형을 형성시킨 후, 여기에 다시 약물과 결합제 및 가소제를 사용한 내피층을 Table III과 같이 제조한 후, Table II의 조건과 같이 코팅을 실시하였다. 이렇게 제조된 멜라토닌을 함유한 과립에 약물의 방출을 제어하기 위한 기



(1) : Core Materials (sugar, etc)
 (2) : Coating Layer
 (3) : Drug Coating Layer
 (4) : Coating Layer of Sustained Membrane
 (5) : Enteric Coating Layer

Figure 1—Structure of sustained-release pellets.

Table I—Formulation of Granules

Ingredients	Weight (g)	Weight (%)
Sugar	200	7.19
HPMC	100	2.40
PEG 6000	20	0.48
Starch (corn)	700	16.79
Water	1050	25.18
Acetone	950	22.78
Ethanol	1050	25.18
Total	4,170	100

Table II–Condition of Coating Machine for Each Process

	Coating condition		
	Granule coating	Melatonin granule coating	Eudragit and Enteric coating
Nozzle size	0.8 mm	0.8 mm	0.8 mm
Automizing air pressure	1.25~1.75 bar	1.7 bar	1.25~1.75 bar
Outlet temperature	30°C	25°C	32°C
Inlet temperature	36°C	32°C	40°C
Inlet air volume	25	25	25
Air distribution plate type	D	D	D
Flow rate	12	12	12
Increasing spray air pressure	0.5 bar/5 flow rate	0.5 bar/5 flow rate	0.5 bar/5 flow rate
Increasing flow rate	2 flow rate/5 min	2 flow rate/5 min	2 flow rate/5 min
Increasing temperature rate	2°C/5 min	2°C/5 min	2°C/5 min

Table III–Formulation of Granules Containing Melatonin

Component	Weight (g)	Weight (%)
Seed (325~425 µm)	200	22.6
Starch	50.4	5.69
MT	14.4	1.62
HPMC	20	2.26
Ethanol	200	22.6
Acetone	200	22.6
Water	200	22.6
Total	884.8	100

제로서 유드라짓®을 코팅하였다. 서방형 제제를 제조하기 위한 고분자 코팅 물질로 사용되어지는 유드라짓®은 서방성 고분자 중 대표적인 합성 고분자로서 폴리메타아크릴레이트 계통의 수 불용성 코팅 기재이며 주로 코팅, 매트릭스 정제, 공침물 등에 사용되고 있다.²⁴⁾

유드라짓®은 보통 용해성에 따라 pH 의존형(유드라짓® E, L, S)와 pH 비의존형(유드라짓® RS, RL)으로 분류할 수 있으며, 이들을 세분하면 유드라짓® RS 30D 또는 100, RL 30D 또는 100, NE 30D 등의 등급으로 분류된다. 그리고 위에서의 위산 저항성을 향상시키기 위한 장용피 코팅을 하

Table IV–Formulation of Sustained Release Coated Pellet Containing Melatonin in Outer Layer

Process	Ingredients	A		B		C		D	
		weight (g)	weight (%)	weight (g)	weight (%)	weight (g)	weight (%)	weight (g)	weight (%)
Sustained membrane coating	Granule containing MT	200	49.75	200	49.75	200	49.75	200	49.75
	Eudragit RS			12.8	3.18			16	3.98
	Eudragit RL	16	3.98	3.2	0.8				
	Eudragit NE 40 D					16	3.98		
	Talc	16	3.98	16	3.98	16	3.98	16	3.98
	Triacetin	2	0.49	2	0.49	2	0.49	2	0.49
	Ethanol	56	13.9	56	13.9	56	13.9	56	13.9
	Acetone	112	27.8	112	27.8	112	27.8	112	27.8
	Total	402	100	402	100	402	100	402	100
			Ingredients		weight (g)		weight (%)		
		First coated pellet		200		31.9			
		HPMC		20		3.19			
Enteric coating		Triacetin		2		0.319			
		Acetone		273		43.6			
		Ethanol		131		20.9			
Total				626		100			

였다. 이의 코팅에 필요한 성분 및 조성을 Table IV에 나타내었고, 코팅 조건을 Table II에 나타내었다. 이렇게 하여 제조된 멜라토닌이 함유된 서방성 펠렛은 다층 구조(Figure 1)로 설계한 것이 특징으로 내피층의 경우 유효 약물과 함께 약알칼리성 또는 중성의 성질을 가지는 결합제 및 가소제를 선택 사용하여 멜라토닌이 안정하도록 하였고, 또 외피층에는 유효 약물 이외에도 유드라짓®을 함유시켜 초기 방출률을 증가시키면서도 약물이 서서히 방출되도록 하는 서방성층을 형성하였다.

서방형제제의 함량시험

멜라토닌 100 mg을 정확히 달아 100 ml 용량 플라스크에 옮기고 phosphate buffered saline (PBS, pH 7.4) 용액으로 녹여 1 mg/ml의 원액을 제조 후, 이 액을 적당히 희석하여 표준액을 제조하였다. 서방성 기제로 코팅한 멜라토닌 서방성 펠렛 20 mg을 정확히 달아 100 ml 용량 플라스크에 옮기고 30분 동안 교반한 다음 PBS로 표선까지 채웠다. 이 액 5 ml를 취하여 50 ml 용량 플라스크에 옮기고 PBS로 채운 후 이것을 검액으로 하여, 0.45 µm membrane filter로 여과한 후 HPLC로 분석하였다. 이동상으로는 15 mM 인산염완충액(pH 2.43)/methanol/acetonitrile (67/19/14)를 사용하였고, 컬럼으로는 ODS-C18 (250×4.6 mm, 0.5φ, Waters, USA)를 사용하였고, 이동상의 유속은 0.8 ml/min, 주입량은 20 µl로 하였으며, 검출과장은 229 nm로 설정하였다.

서방성 펠렛의 표면 구조 측정

입자의 표면 구조와 코팅된 입자의 표면 구조를 검토하기 위하여 서방성 외피로 코팅된 펠렛을 전자주사현미경으로 관찰하였다. 시료를 백금 증착기에 넣고 진공도 0.15 torr 및 6-7 mA의 조건에서 입자 표면을 피복하였다. 전자주사 현미경 본체 내에 고정시키고 15 KV에서 일정 비율로 펠렛의 코팅 표면과 단면을 관찰하였다.

서방성 펠렛시험의 용출

멜라토닌 30 mg에 해당하는 서방성 펠렛을 USP 제1법(회전검체통법)에 따라 100 rpm, 37±0.5°C의 조건하에서 6시간 동안 용출시험을 하고, 일정 시간 간격으로 용출시험액을 취해 0.45 µm membrane filter로 여과하여 HPLC로 정량하였다. 용출시험은 최초 2시간까지는 인공위액 (pH 1.2) 500 ml에서 실시하였고, 2시간 이후에는 0.235 M-Na₂HPO₄ 용액 400 ml를 추가하여 900 ml의 인공장액 (pH 6.8) 조건으로 만들어 연속적으로 용출시험을 행하였다.

저장안정성 평가

멜라토닌 제제의 저장안정성은 가속시험을 통한 함량의 감소 추이 비교를 통해 평가하였다. 유드라짓® 등급에 따라 제조되어진 비드를 폴리스티렌 접시에 담은 후, 40°C에서 상대 습도 75%의 항온항습기(DAIHAN, SH-C150, 한국)에 보관하여, 이 비드를 일주일 간격으로 4주 동안 일정량을 채취하였다. 채취된 비드는 진공오븐에서 12시간 동안 건조시킨 후, 막자사발로 갈아 균일한 상태의 분체로 만들었다. 이 중 10 mg의 분체화된 시료를 20 ml의 메탄올을 첨가하여 1분간 vortex하였다. 이 용액을 0.45 µm 나일론 필터(Whatman, U.K.)로 여과 후, HPLC로 분석하였다.

결과 및 고찰

서방성 펠렛의 함량시험

약물 함유 서방성 외피 코팅된 펠렛에 대하여 함량시험을 한 결과 98% 이상의 함량 %를 나타내었으며, 코팅에 의한 약물 손실은 거의 나타나지 않았다. 단지 비드에 멜라토닌이 함유된 약물층을 코팅시, 코팅 완료 후 수득율이 82.2% 정도로 손실이 많았으나 약물 함량 측정 결과 약물 손실량은 그보다 적은 5%이었다. 손실이 일어난 것은 약물보다 부형제인 전분에 의한 것으로 사료된다.

서방성 펠렛의 표면 구조 측정

유드라짓® RS100과 RL100, NE 30D로 서방성 외피 코팅을 실시한 후에 코팅의 정도를 알아보기 위해 전자주사현미경을 이용하여 표면 및 단면을 분석하였다. Figure 2에서 나타내는 바와 같이 코팅된 표면은 매우 고른 구형의 펠렛 구조를 나타내었으며, 또한 내부도 균일하게 코팅되어 있는 것을 확인할 수 있었다. 또한, 멜라토닌이 코팅되어 있는 모양을 확인할 수 있었다. 과립코팅의 표면을 분석해본 결과 유드라짓® RS100과 NE 30D, RL100의 순서로 비드의 밀도가 더 치밀함을 확인할 수가 있었다. 따라서 유드라짓®의 등급을 조절하거나 함량비를 조절하여 막의 안정성을 확인하고, 방출량과 방출 시간을 조절할 수 있었다.

서방성 펠렛의 용출시험

Table II와 같은 코팅기의 조건으로 서방형 외피로 코팅된 약물을 함유한 펠렛을 6시간 동안 용출 시험한 결과, 인공위액에서는 약물이 방출하지 않았으나 인공장액에서 약물이 방출되는 것을 볼 수가 있었다. 그 이유는 코팅 단계에서 확인할 수 있듯이 장용피 코팅에 의해 pH가 낮은 위액에서 약물의 방출을 지연하는 것을 확인할 수 있었다. 시간에 따

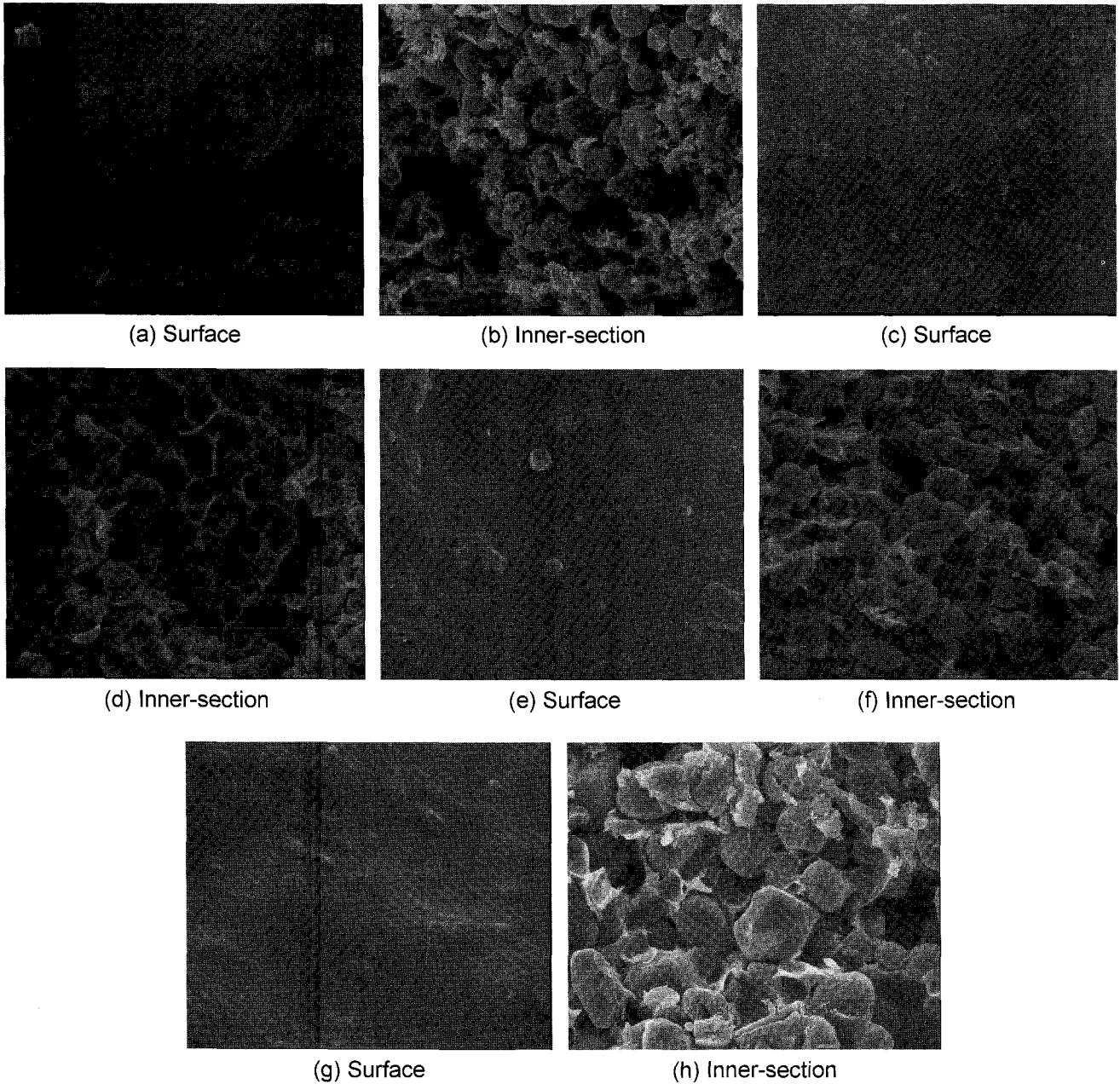


Figure 2—Scanning electron micrographs of sustained release coated pellet with Eudragit® RS100: Eudragit® RL100, Eudragit® RL100, Eudragit® NE 30D, Eudragit® RS100.

른 용출률을 Figure 3에 나타내었으며, 유드라짓®의 등급에 따라 방출경향이 다른 것을 볼 수가 있었고, 투과력이 좋은 유드라짓 RL은 위액에서는 방출하지 않고 인공장액에서 초기 1시간 동안 70% 이상의 방출률을 보이며 방출 4시간 후 90% 이상의 방출률을 나타내었다. 방출률을 조절하기 위해서 중간 정도의 투과성을 나타내는 NE 30D를 사용하여 코팅시 장액에서 초기 1시간 동안 25% 이상 방출되었으며, 4시간에는 70% 이상의 약물이 용출되었다. 또한 투과력이

가장 낮은 유드라짓 RS의 경우 장액에서 4시간 동안의 방출률이 25%로 가장 낮은 방출률을 보였다. 그 이유는 초기의 약물 방출은 유드라짓® RL이 장액에 빠르게 수화되어 고분자층에 분산되어 있는 멜라토닌이 신속하게 방출되지만, 반대로 유드라짓® RS100층은 서서히 수화되면서 확산에 의하여 방출되어 서방성 기준에 적합한 방출양상을 나타내기 때문이다. 특히 유드라짓® RS는 위장관 내에서 용해되지 않고 물을 흡수하여 팽윤되기 때문에 제어 방출 제제의

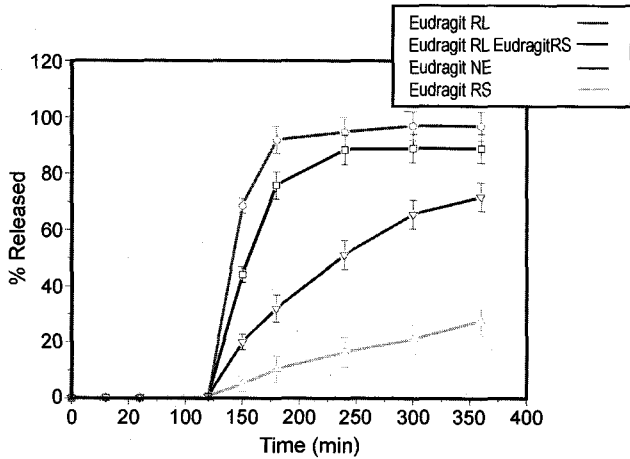


Figure 3—Dissolution behavior of Melatonin in simulated intestinal juice and enteric juice at 100 rpm under 37.5±0.5°C.

고분자 피막 소재로 많이 이용되고 있다. 유드라짓® RS와 RL의 성질을 비교해 보면 유드라짓® RS는 낮은 투과성을 가지며 유드라짓® RL은 높은 투과성을 나타낸다. 이것은 유드라짓® 구조에서 폴리메타아크릴레이트에 결합되어 있는 3차 암모늄염의 함량 차이에 의해서 투과성의 차이가 나타나는 것이다. 유드라짓® RS와 RL은 매우 딱딱한 필름의 형태로 가소제가 필요하며 가소제의 종류에 따라 약물 방출이 영향을 받는 것으로 알려져 있다. 유드라짓® NE 30D의 경우는 매우 부드러운 형태의 고분자로 가소제에 의한 영향이 없으며, 낮은 온도에서도 코팅이 가능하며 유기 용매를 사용하지 않아도 코팅이 이루어지는 장점이 있다. 약물 방출 특성은 코팅의 두께, 코팅기의 온도, 가소제의 종류 등에 의해 영향을 받으며, 이러한 조건에 따라 여러 가지 유형의 약물 방출 형태를 관찰할 수 있다.

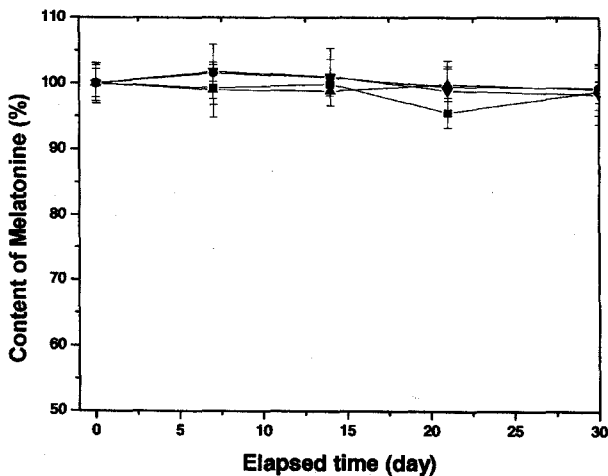


Figure 4—The effect of Eudragit® layer on the storage stability of melatonin (n=3, ■: Eudragit® RL, ●: Eudragit® NE30, ▲: Eudragit® RS, ▼: Eudragit® RL, Eudragit® RS).

약물의 저장 안정성

Figure 4에서 유드라짓® 등급에 따라 약물의 함량변화를 40°C, 75% 상대습도의 가속조건에서 약물의 안정성을 확인하였다. 또한 약물을 acetonitrile에 녹여 HPLC로 얻은 면적비를 비교하여 시간에 따른 멜라토닌의 함량 변화를 확인해 본 결과 한 달 동안 약물의 함량이 약 95% 이상 유지됨을 확인하였다. 설계한 과립제형은 적어도 한 달 동안은 약물 함량의 변화가 많이 일어나지 않으면서 약물을 안정하게 유지하는 것을 확인할 수 있었다.

결 론

멜라토닌이 함유된 서방형제제를 개발하기 위해 약물이 함유된 과립 외피에 약물이 함유되지 않은 서방형 코팅 과립과 다시 여기에 위액에 보호하고 장액에서 방출할 수 있는 층을 입혀 서방형 경구용 제제를 제조하였다. 그 후 서방형 과립에 대한 용출 시험을 실시하여 생체의 방출실험에서 약물의 용출 양상을 확인하였다.

1. 멜라토닌을 함유한 과립에 대해 유드라짓®의 등급에 따라 약물의 방출이 지연되는 것을 관찰할 수 있었다.
2. 장용피 코팅층에 의해 약물이 인공위액에 체류할 때는 방출되지 않았고, 인공장액에서는 약물이 방출되는 것을 확인할 수 있었다.
3. 유동층 코팅기(Fluidized bed coater)를 가지고 멜라토닌을 함유한 서방형 과립을 제조할 수 있었고, 유드라짓®의 등급에 따라 약물의 방출을 제어할 수 있었다.
4. 제조되어진 멜라토닌 과립의 저장안정성을 확인해본 결과 장용피 코팅되어진 약물은 약 한달 동안 안정한 것을 확인할 수가 있었다.

이상의 실험결과로 멜라토닌을 함유한 서방형 제제의 개발은 치료효과를 유지하면서 약물이 가지는 고유의 부작용을 줄일 수 있고, 환자의 복약순응도를 높일 수 있을 것으로 사료된다.

문 헌

- 1) G. Khang, J. C. Cho, J. W. Lee, J. M. Rhee and H. B. Lee, Preparation and characterization of Japanese encephalitis virus vaccine loaded poly(L-lactide-co-glycolide) microspheres for oral immunization, *Bio-Med. Mater. Eng.*, **9**, 49-59 (1999).
- 2) G. Khang, J. H. Lee, J. W. Lee, J. C. Cho and H. B. Lee, Preparation and characterization of poly(lactide-co-glycolide) microspheres for the sustained release of AZT, *Korea*

- Polymer J.*, **8**(2), 80-88 (2000).
- 3) J. C. Cho, G. Khang, H. S. Choi, J. M. Lee and H. B. Lee, Preparation of biodegradable PLGA microspheres for sustained local anesthesia and their *in vitro* release behavior, *Polymer(Korea)*, **24**(5), 728-735 (2000).
 - 4) G. Khang, H. Choi, J. C. Cho, S. C. Yoon, J. M. Rhee and H. B. Lee, Controlled release of gentamicin sulfate from poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) wafers for the treatment of osteomyelitis, *Korea Polymer J.*, **8**(6), 253-260 (2000).
 - 5) G. Khang, S. W. Kim, J. C. Cho, J. M. Rhee, S. C. Yoon and H. B. Lee, Preparation and characterization of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) microspheres for the sustained release of 5-fluorouracil, *Bio-Med. Mater. Eng.*, **11**, 89-103 (2001).
 - 6) D. Stephens, L. Li, D. Robinson, S. Chen, H. Chang, R. M. Liu, Y. Tian, E. J. Ginsburg, X. Gao and T. Stultz, Investigation of the *in vitro* release of gentamicin from a polyanhydride matrix, *J. Control. Rel.*, **63**, 305-317, (2000).
 - 7) Y. Ikada, S. H. Hyon, K. Jamshidi, S. Higashi, T. Yamamuro, Y. Katutani and T. Kitsugi, Release of antibiotic from composites of hydroxyapatite and poly(lactic acid), *J. Control. Rel.*, **2**, 179-186 (1985).
 - 8) S. W. Kim, G. Khang, J. M. Rhee and H. B. Lee, Effect of cosolvents on release profiles of 5-fluorouracil loaded poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) microspheres, *Macromol. Chem. Symp.*, **14**, 108-119 (2001).
 - 9) M. K. Choi, G. Khang, I. W. Lee, J. M. Rhee and H. B. Lee, Fabrication and characterization of porous PLLA scaffolds with gentamicin sulfate release system, *Polymer (Korea)*, **3**, 318-326 (2001).
 - 10) 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).
 - 11) 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
 - 12) 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).
 - 13) L.J. Benes, B. Claustrat, G. Degrande, N. Ducloux, M. Geoffriau, F. Horriere, H. Karsenty and D. Lagain, Plasma melatonin (M) and sulfatoxymelatonin (aMT6s) kinetics after transmucosal administration to human. In: *Melatonin and the Pineal Gland-from Basic Science to Clinical Application*. Touitou, Y. Arendt, J. and Pevet, P. (Eds). Elsevier Science Publishers B. V., Amsterdam, The Netherlands, 347-350, (1993).
 - 14) B. J. Lee, K. A. Parrott, J. W. Ayres and R. L. Sack, Design and evaluation of an oral controlled release delivery of melatonin in human subject. *Int. J. Pharm.*, **124**, 119-127, (1995).
 - 15) B-J. Lee, K. A. Parrott, J. W. Ayres and R. L. Sack, Preliminary evaluation of transdermal delivery of melatonin in human subject. *Res. Comm. Mol. Pathol. Pharmaceutical dosage form.*, **85**, 337-344, (1994).
 - 16) A. Brezinski, Mechanisms of disease: melatonin in humans, *N. Eng. J. Med.*, **336**, 186-195 (1997).
 - 17) J. Arendt, Melatonin, *Br. Med. J.*, **312**, 1242-1243 (1990).
 - 18) 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).
 - 19) D. Garfinkel, R. J. laudon, D. Nof and N. Zisapel, Improvement of sleep quality in elderly people by controlled release melatonin, *Lancet*, **346**, 541-544 (1995).
 - 20) I. V. Zhadanova, R. J. Wurtman, H. J. Lynch, J. R. Ives, A. B. Dollins, C. Morabito, J. K. Matheson and D. L. Schorner, Sleep-inducing effects of low doses of melatonin ingested in the evening, *Clin. Pharmacol. Ther.*, **57**, 552-558 (1995).
 - 21) 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).
 - 22) 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).
 - 23) 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).
 - 24) B. J. Lee and G. H. Min, Oral controlled released of melatonin using polymer reinforced and coated alginate beads, *Int. J. Pharm.*, **212**, 63-71 (2001).
 - 25) Ibrahi, El-Gibaly, Development and *in vitro* evaluation of novel floating chitosan microcapsules for oral use; comparison with non-floating chitosan microspheres, *Int. J. Pharm.*, **249**, 7-21 (2002).
 - 26) H. Arthur, Handbook of Pharmaceutical Excipients, 3rd Eds, 401 (2000).
 - 27) A. B. Robert, Lansoprazole and omeprazole in the treatment of acid peptic disorders, *Am. J. Health-Syst. Pharm.*, **53**, 1401-1415 (1996).