

VEICULAÇÃO DE FÁRMACOS PARA O CÓLON

Pedro Barata

Mestre Assistente
Faculdade de Ciências da Saúde – UFP
pbarata@ufp.pt

Rita Oliveira

Mestre Assistente
Faculdade de Ciências da Saúde - UFP

Delfim Santos

Professor Auxiliar
Faculdade de Farmácia – UP

OrazioLuca Strusi

Università degli Studi di Parma (Itália)

Francisco Veiga

Professor Auxiliar
Faculdade de Farmácia - UC

Resumo

A veiculação de fármacos para o cólon tem atraído a atenção de muitos investigadores interessados no tratamento de patologias locais e no seu potencial para a veiculação de proteínas e peptídeos. Para desenvolver estes sistemas é fundamental compreender o cólon enquanto local de veiculação de fármacos, em particular a sua capacidade de absorção e o tempo necessário para o atingir. Dois tipos de abordagens podem ser utilizados, libertação retardada ou libertação específica no cólon. O primeiro caso é menos específico e consiste em formulações preparadas de forma a retardar a libertação de fármaco até o sistema farmacêutico atingir o cólon. O segundo caso explora as propriedades de pH, actividade enzimática e pressão intraluminal do cólon para promover a libertação colónica de fármacos.

Palavras-chave

Cólon, veiculação de fármacos, degradação enzimática, sistemas de libertação retardada, sistemas de activação colónica

Abstract

Colon targeting has been attracting interest for those interested in treating local pathologies and administrating proteins and peptides. In order to develop these systems a perfect understanding of the colonic region is compulsory. Two main strategies are used: delayed release and specific release. The first one, less specific, consists in postponing release from the system until it reaches de colon. The second one uses colon properties as pH, enzymatic activity and intraluminal pressure to trigger colonic drug release.

Key-words

Colon, drug targeting, enzymatic activation, delayed release systems, colon activated systems

1. INTRODUÇÃO

A via oral é a mais frequentemente utilizada para administração de fármacos, dada a sua conveniência, elevada aceitação pelos pacientes, e ainda por constituir uma via segura que não exige tantas especificações técnicas de segurança como por exemplo a via parentérica.

A veiculação de fármacos para o cólon oferece várias vantagens do ponto de vista terapêutico, nomeadamente no tratamento de enfermidades do cólon, como a doença de Chron e o cancro do cólon-rectal, em que se demonstrou a maior eficácia de uma acção local em detrimento de uma acção sistémica.

A veiculação para o cólon pode ser conseguida recorrendo a duas vias de administração: a rectal e a oral, sendo que a segunda é preferida relativamente à primeira devido à grande variabilidade observada na distribuição dos fármacos administrados por aquela via. O cólon é considerado um local de eleição para a administração oral de proteínas e peptídeos, pois oferece um ambiente menos hostil a este tipo de fármacos, que são alvo de intensa degradação enzimática e química ao nível do intestino delgado. Vários sistemas farmacêuticos têm sido propostos para veiculação colónica de fármacos, sendo que alguns se encontram já em fase de comercialização. Para se compreender adequadamente o mecanismo de acção destes sistemas, é fundamental conhecer a anatomofisiologia e a histologia do cólon bem como as suas características no que concerne ao local de absorção de fármacos.

2. ANATOMOFISIOLOGIA DO CÓLON

O Cólon é a parte final do trato gastrointestinal, sendo constituído pelo cólon ascendente, o cólon transverso, o cólon descendente e o cólon sigmóide que se liga directamente ao recto e ânus. Nos adultos apresenta um comprimento médio de 1,5 metros, 6,5 centímetros de diâmetro e uma área total de 0,3 m² (Faigle,1993), bastante inferior à do intestino delgado, 120 m², local por excelência do processo de absorção.

Do ponto de vista histológico a parede do cólon é formada por quatro camadas: a camada serosa, a muscular externa, a submucosa e a mucosa, a camada mais interior. Esta camada mucosa é composta pela mucosa muscular, a lâmina própria, que desempenha um papel importante na função imunológica do cólon, e o epitélio. Visto que o cólon é irrigado pelas artérias mesentéricas, qualquer fármaco nele absorvido passará imediatamente pelo fígado sofrendo o efeito de primeira passagem.

Ao longo do cólon os padrões de motilidade variam, sendo que a primeira parte do cólon é caracterizada pelo seu anti-peristaltismo, o que faz com que o conteúdo fecal lá permaneça por longos períodos. Juntando a este facto a menor viscosidade do conteúdo intestinal em relação a outras áreas do cólon, resulta daí uma zona ideal para absorção colónica de fármacos (Ashford,1994). A restante parte do cólon é caracterizada por movimentos peristálticos coordenados que forçam a fragmentação e evacuação do conteúdo intestinal.

2.1. TEMPO DE RESIDÊNCIA NO CÓLON

Para que um fármaco possa ser absorvido a nível do cólon é necessário que seja disponibilizado atempadamente pelo sistema farmacêutico, ou seja, durante a presença deste no cólon. Em indivíduos saudáveis o tempo de trânsito colónico varia entre 22 e 36 horas (Edwards, 1993) estando as primeiras 7 a 11 horas na zona alvo de absorção a nível do cólon, a região proximal. O trânsito no cólon é altamente afectado por diferentes factores tais como a dieta, patologias existentes, medicação concomitante e o sexo (Gear et al, 1981; Enck et al, 1993). Estes autores referiram ser o tempo de trânsito no cólon superior nas mulheres e inferior em situações de stress. O efeito de patologias como obstipações e diarreias, frequentemente associadas a efeitos secundários de medicação concomitante é fácil de inferir. Importante é também a composição da dieta, sendo referido (Gear et al, 1981) o papel das fibras alimentares na aceleração do trânsito colónico.

3. CARACTERÍSTICAS DOS FÁRMACOS QUE FAVORECEM A VEICULAÇÃO COLÓNICA

Como foi anteriormente afirmado, a veiculação de fármaco para o cólon por via oral é extremamente dependente do esvaziamento gástrico e do tempo de trânsito intestinal. No entanto, factores como o pKa do fármaco, eventuais patologias e medicação concomitante são também importantes. A tabela seguinte resume os factores que afectam a absorção colónica de fármacos.

Tabela 1 - Factores que afectam a absorção colónica de fármacos

Características da fármaco (pKa e grau de ionização)
Motilidade do tracto gastrointestinal
Degradação por enzimas e bactérias
Ligação selectiva e não selectiva ao muco
Local fisiológico de acção do fármaco
Enfermidades
Uso de promotores de absorção, inibidores enzimáticos ou de bioadesivos

A permeabilidade do cólon é no entanto limitada, o que compromete a absorção de determinados fármacos. Tal situação pode no entanto ser obviada recorrendo a promotores de absorção, cujo efeito tem sido amplamente demonstrado. Na tabela seguinte apresenta-se um resumo das principais classes de promotores de absorção utilizados.

Tabela 2 - Principais classes de promotores de absorção utilizados

Anti-inflamatórios não esteróides (ex: Salicilatos)
Agentes quelantes (ex: EDTA)
Surfactantes (ex: saponina)
Sais biliares (ex: glicocolato)
Ácidos gordos (ex: oleato de sódio)
Micelas Mistas (ex: ácido oleico-glicocolato)
Outros agentes (ex: acilcarnitina, azona)

4. SISTEMAS FARMACÊUTICOS DE VEICULAÇÃO ESPECÍFICA PARA O CÓLON

Nos últimos anos vários sistemas têm vindo a ser desenvolvidos para veicular fármacos para o cólon. Várias estratégias têm sido aproveitadas, quer aproveitando particularidades anatomofisiológicas da região do cólon, quer adaptando conhecimentos de outras áreas da tecnologia farmacêutica. Em seguida apresentam-se os principais tipos de sistemas para veiculação colónica de fármacos.

4.1. SISTEMAS DEPENDENTES DO TEMPO

Actualmente é fácil modular a libertação de um fármaco a partir de um sistema farmacêutico, de forma a controlar a sua área de absorção. Este tipo de formulações, que apresentam como grande vantagem a de poderem ser preparadas utilizando maquinaria tradicional, têm tido enorme aceitação, ao ponto de serem já comercializados sistemas deste tipo como o Pentasa[®]. Neste sistema, a libertação da substância activa faz-se por um processo combinado de erosão e difusão, através da camada gelificada que se forma por contacto do sistema farmacêutico com os fluidos orgânicos.

Em 1995 Gazzaniga (Gazzaniga, 1995) desenvolveu um sistema estável no ambiente ácido do estômago e capaz de, após a passagem ao intestino, accionar o mecanismo responsável por simular a presença do sistema no intestino delgado e posteriormente libertar a substância activa. Este sistema apresenta a seguinte configuração: a) camada externa gastrosistente b) camada intermédia composta por um polímero hidrofílico como a Hidroxipropilmetilcelulose, responsável pelo tempo de latência, c) núcleo com fármaco. Ao chegar ao duodeno a camada externa dissolve-se e o polímero contacta com o fluido intestinal, gelificando-se, retardando assim a libertação do fármaco que é feita por uma combinação de intumescimento e erosão da camada hidrofílica.

Outro sistema (Mcneil, 1990), o Pulsincap[®], baseia-se num princípio semelhante. Esta forma farmacêutica é constituída por uma cápsula com uma parte insolúvel e outra revestida por um polímero entérico que se dissolve à entrada do intestino expondo um hidrogel que intumesce e passado algum tempo se destaca da forma farmacêutica permitindo a libertação do fármaco. (ver figura). O mesmo autor (Mcneil, 1990) desenvolveu o sistema Time-Clock[®] que consiste num núcleo com fármaco revestido por uma mistura de polímeros hidrófobos, em que a substância activa é libertada após um período de latência dependente da espessura do revestimento, sendo por isso, independente do pH do meio e da dieta do paciente. Em 1997 Steed (Steed, 1997) demonstrou a eficácia deste sistema para a veiculação colónica do ácido 5-aminosalicílico.

O sistema OROS-CT[®] (Tweeuwes, 1993) baseia-se na tecnologia das bombas osmóticas para veicular fármacos para o cólon. Este sistema é composto por um compartimento osmótico e por um outro que contém a substância activa, rodeados por uma membrana semipermeável onde existe um orifício adjacente ao compartimento que contém o fármaco. Este dispositivo é revestido por uma membrana entérica que se dissolve ao contactar com o fluido intestinal, o que permite a entrada de água no sistema, intumescendo o compartimento osmótico e promovendo a saída controlada de fármaco do sistema farmacêutico.

4.2. SISTEMAS DEPENDENTES DO PH

Estes sistemas baseiam-se nas variações de pH que se verificam ao longo do tubo gastrointestinal para assim veicular fármacos para o cólon. A maior parte destes sistemas consiste em revestimentos com polímeros insolúveis a pH ácido e que solubilizam em ambiente de pH ligeiramente alcalino.

Os polímeros do ácido metacrílico e metilmetacrílico, vulgarmente conhecidos por Eudragit®, nomeadamente o Eudragit S e o Eudragit L, são os mais utilizados para este efeito. A libertação de fármacos a partir de sistemas deste tipo foi primeiramente descrita por Healey (Healey, 1989) parecendo desde logo ser bastante promissora.

Em 2003, Luppi (Luppi, 2003) sugeriu a substituição dos derivados metacrílicos por ácidos gordos, tendo também conseguido resultados relevantes.

Embora promissoras, as formulações deste tipo levantam sempre algumas dúvidas no que respeita à sua eficácia, uma vez que diferenças mínimas de pH ao longo do tracto gastrointestinal, aliadas à variabilidade intra e interindividual da fisiologia gastrointestinal não podem constituir obstáculo para a correcta libertação do fármaco no local alvo. Para obviar esses problemas de falta de reprodutibilidade e especificidade no local de libertação que resulta da variabilidade dos tempos de trânsito gastrointestinal das formas farmacêuticas, alguns autores (Rudolph, 2001 ; Gupta, 2001, Lamprecht, 2003; Lamprechet, 2004) sugeriram o uso de sistemas multiparticulares, nomeadamente *pelletes*.

Além destas limitações, estes sistemas apresentam o problema adicional de se basearem num aumento de pH na passagem do íleo para o cólon proximal. No entanto, sabe-se que tal situação está comprometida em patologias como as fases agudas da doença inflamatória do intestino em que o pH intestinal cai para valores entre os 2,3 e os 4,7 (Leopold, 2000), situação que compromete a eficácia do sistema farmacêutico.

Outros autores (Nykanen, 2001; Ishibashi 1998) propuseram o uso de ácidos orgânicos como material de revestimento entérico e obtiveram (Ishibashi, 1999) resultados muito prometedores e mais reprodutíveis.

Um outro sistema, CODES®, proposto por Watanabe (Watanabe, 1998) constitui um sistema tempo-pH dependente que é activado pela meolização da microflora do cólon, tornando-se assim um sistema muito mais específico e eficaz que os restantes.

4.3. SISTEMAS ACTIVADOS PELA MICROFLORA COLÓNICA

O cólon é colonizado por um grande número de bactérias com elevada capacidade de metabolização de diferentes compostos endógenos e exógenos.

Todos estes sistemas são baseados no uso desse metabolismo bacteriano para veicular os fármacos para o cólon recorrendo a diferentes estratégias: pró-fármacos, revestimentos e sistemas matriciais. A principal vantagem deste tipo de sistemas é a sua grande especificidade, visto estas bactérias apenas existirem a nível do cólon. A tabela seguinte apresenta as principais enzimas que catalizam reacções a nível do cólon humano.

Tabela 3 - Principais enzimas que catalizam reacções a nível do cólon humano

Enzimas	Microorganismo	Tipo de Reacção
Nitroreductase	<i>E.Coli</i>	Redução Aromática
Azoreductase	<i>Clostridia, E.Coli</i>	Clivagem de compostos azo
Hidrogenase	<i>Clostridia</i>	Redução grupos carbonilo e duplas ligações alifáticas
Esterases	<i>E.Coli, P.vulgaris</i>	Clivagem esteres
Glucosidases	<i>Clostridia, Eubacteria</i>	Clivagem β -glucosidases
Glucoronosidases	<i>E.Coli, A.aerogenes</i>	Clivagem β -glucoronosidases
Sulfatase	<i>Eubacteria, Clostridia</i>	Clivagem O-sulfatos

4.3.1. PRÓ-FÁRMACOS

A utilização de pró-fármacos no âmbito dos sistemas activados pela microflora do cólon implica a formação de moléculas farmacologicamente inactivas que posteriormente são activadas *in vivo* assim que atingem o cólon (Macleod, 1992 ; Van der Mooter, 1992). A principal crítica que lhes é levantada passa pelo facto de implicarem modificações químicas do fármaco e de oferecerem um menor nível de protecção contra o ambiente da parte superior do tubo gastrointestinal quando comparado com outros sistemas.

Podemos classificar as reacções pelas quais as substâncias activas são libertadas em dois grandes grupos: azo-reduções e hidrólises. Um exemplo de pró-fármaco que sofre azo-redução para veicular o fármaco para o cólon é a sulfasalazina. Quando o ácido 5-aminossalícílico é administrado sob a forma de sulfasalazina, mais de 85% do fármaco atinge a região alvo, o cólon, em comparação com os menos de 10% quando o fármaco é administrado directamente por via oral.

As hidrólises são o outro grande grupo de reacções de libertação de fármacos para veiculação ao cólon. Frequentemente os pró-fármacos deste tipo são obtidos conjugando a molécula do fármaco com moléculas grandes como os glicosídeos, os glicoronídeos, os dextranos, as ciclodextrinas e os polímeros acrílicos.

Os pró-fármacos formulados com glicosídeos são maiores e mais hidrofílicos do que o fármaco, o que tende a reduzir a extensão da absorção ao longo do tubo gastrointestinal (Haeblerlin, 1993). Chegadas ao cólon, estes conjugados são clivados pelas glucosidases bacterianas libertando a substância activa.

A utilização de glucoronídeos na preparação de pró-fármacos é vantajosa em relação ao uso de glicosídeos visto a sua absorção a nível do intestino delgado ser menor e a actividade nesse local das glucoronidases ser mais baixa (Friend, 1995).

Os pró-fármacos obtidos por conjugação com dextranos são degradados pelas dextranases e estereases presentes no cólon. Esta é uma estratégia promissora para o tratamento de doenças crónicas como a colite ulcerosa ou a doença de Chron, visto as Bacterioides, bactérias que secretam estas enzimas, estarem presentes na flora fecal destes pacientes (Larsen, 1989).

As ciclodextrinas são oligossacarídeos cíclicos frequentemente utilizadas na libertação modificada de fármacos. Estes compostos são fermentados pelas polissacaridases presen-

tes no cólon. As suas grandes vantagens passam por serem pouco hidrolisados e pouco absorvidos no estômago e no intestino delgado, o que faz deste tipo de conjugação muito interessante para veiculação colónica (Zou, 2004).

Uma outra estratégia passa por conjugar fármacos com polímeros acrílicos originando pró-fármacos com ligações amida ou éster biodegradáveis (Davaran, Khosravi, 1999). A eficácia destes sistemas depende do grau de intumescimento nas regiões que antecedem o cólon. Quanto mais alto for o pH maior será esse intumescimento, o que torna o conjugado mais susceptível a hidrólises. Visto não ser grande a diferença de pH entre o intestino delgado e o cólon, estes sistemas são pouco específicos e, conseqüentemente, menos eficazes que outros já apresentados.

4.3.2. SISTEMAS REVESTIDOS POR POLÍMEROS BIODEGRADÁVEIS

O revestimento de diferentes sistemas farmacêuticos por polímeros biodegradáveis pelas bactérias da microflora do cólon tem sido proposto como mecanismo de veiculação de fármacos para o cólon. Os excipientes utilizados no revestimento devem obedecer a determinados requisitos: proteger o fármaco na parte superior do tubo gastrointestinal e assegurar uma libertação rápida da substância activa quando se atinge a zona alvo (Bauer, 1995). Para tal, devem ser insolúveis em água a qualquer valor de pH fisiológico, susceptíveis de degradação pelas bactérias do cólon, solúveis ou dispersíveis em solventes adequados para o processo de revestimento, capazes de formar filmes de revestimentos e de não apresentarem toxicidade (Bauer, 1995).

As duas principais classes de polímeros utilizados no revestimento de sistemas de libertação específica para o cólon são polímeros naturais como os polissacarídeos (Rubinstein, 1997), a amilose (Milojevic, 1995), a pectina (Ashford, 1994), o quitosano (Vervoort, 1996), a inulina (Vervoort, 1996), e a goma guar (Krishnaiah, 1998), e polímeros sintéticos com ligações azo.

São exemplos de polímeros sintéticos usados com sucesso, o BMAAB e o MMA (Van der Mooter, 1992), as poliamidas lineares e os poliuretanos.

4.3.3. SISTEMAS MATRICIAIS E HIDROGELIFICADOS

Alguns polissacarídeos têm também sido utilizados na produção de matrizes, nomeadamente a pectina, a goma guar, e o quitosano (Zhang, 2002). A maior vantagem deste tipo de sistemas reside no facto de a sua produção não exigir equipamento muito especializado. A sua maior desvantagem prende-se com a alta hidrofília destes polímeros o que limita a sua utilização a fármacos pouco solúveis (Liu, 2003). Outro inconveniente é o tempo elevado de degradação enzimática da matriz (Yang, 2002). Com vista a obviar estes problemas, vários autores (Rubinstein, 1992) têm recorrido a modificações químicas dos polissacarídeos para reduzir a sua solubilidade.

Outro tipo de sistemas destinados a serem degradados exclusivamente no cólon são os sistemas hidrogelificados. O grau de intumescimento do hidrogel, nas condições ácidas estomacais, é limitado, o que protege a substância activa da degradação pelas enzimas digestivas. À medida que o pH aumenta, aumenta também o grau de intumescimento,

como consequência da ionização e repulsão das cargas no interior do hidrogel. No cólon o intumescimento é máximo permitindo o acesso de enzimas como as azoredutases às reticulações do hidrogel, resultando daí a libertação do fármaco (Kopecek, 1992). Vários tipos de hidrogéis têm vindo a ser propostos, sendo de destacar o dextrano (Bronsted, 1995), a goma guar (Krishnaiah, 1998) e a inulina (Vervoort, 1998).

O maior inconveniente deste tipo de sistemas é, no entanto, a limitada quantidade de fármaco que podem incorporar, não sendo por isso viáveis quando se pretende veicular fármacos tipo ácido 5-aminossalicílico que requer, como se sabe, doses terapêuticas elevadas.

4.4. SISTEMAS BASEADOS NA PRESSÃO INTRALUMINAL DO CÓLON

Uma outra estratégia para veicular fármacos ao cólon aproveita as ondas peristálticas vigorosas que aí ocorrem e que causam um aumento da pressão intraluminal. Para tal foram desenhadas cápsulas que cuja libertação da substância activa é determinada pela pressão, as PCDC ("Pressure Control Cólon Delivery Capsule"). Estas cápsulas são de forma oblonga, comportam-se de forma semelhante aos supositórios, constituídas por polietilenoglicóis, revestidas por etilcelulose (Shibata, 2001) e, quando administradas por via oral, a sua base liquefaz-se rapidamente devido à temperatura corporal. Até ao cólon as cápsulas não estão sujeitas a elevadas pressões luminas, mas uma vez aí chegadas, a sua integridade é comprometida libertando-se a substância activa. O mesmo autor demonstrou que este processo é altamente dependente do tamanho da cápsula e da espessura do filme de revestimento. Outra limitação deve-se ao parco conhecimento que temos sobre estas ondas peristálticas nomeadamente no que diz respeito à sua reprodutibilidade e duração, pensando-se estarem directamente ligadas ao ritmo circadiano.

5. CONCLUSÕES

A veiculação de fármacos para o cólon tem inegável interesse nomeadamente em situações específicas como a colite ulcerosa ou a doença de Chron. Nos últimos anos têm sido desenvolvidos diferentes tipos de sistemas sendo que os que se baseiam na acção da microflora do cólon são os mais específicos de todos. Também os sistemas tempo e pH dependentes, embora notoriamente menos específicos têm apresentado resultados muito prometedores. A elevada variabilidade intra e interindividual existente levanta ainda grandes problemas no que diz respeito à reprodutibilidade de sistemas deste tipo. Adicionalmente, o impacto de determinadas patologias, como a doença inflamatória no intestino, na libertação de fármacos a partir destes sistemas deve ser bem esclarecido de forma a não comprometer a terapêutica. Prevê-se também uma vantagem competitiva para aqueles sistemas que possam ser produzidos recorrendo a equipamento industrial convencional em detrimento daqueles que exijam maquinaria altamente especializada, e para aqueles em que a produção em larga escala seja rápida e reprodutível.

Este é um campo com futuro promissor, e é previsível que nos próximos tempos apareçam novos sistemas mais reprodutíveis, e que permitam obter os resultados terapêuticos pretendidos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASHFORD M, Fell J.T., *Int. J. Pharm.*, vol 95, 193-1999, 1994
- ASHFORD, M.; *J. Drug Targeting*, vol 2, 241-258, 1994
- BAUER K.H., Kesselhut J.F., *S.T.P. Pharma Sci*, vol 5, 54-59, 1995
- DAVARAN S., Khosravi A., *J. Control. Release*, vol 58, 279-287, 1999
- EDWARDS C.; *Drugs and the Pharmaceutical Sciences*, 1-28, NY, Marcel Dekker, 1993
- ENCK P., Merlin V., Wienbeck M.; *Gut*, Vol 30, 455-459, 1993
- FAIGLE, J.W.; *Drugs and the Pharmaceutical Sciences*, 29-54, NY, Marcel Dekker, 1993
- FRIEND D.R., *STP Pharma Sci.*, vol 5, 70-76, 1995
- GAZZANIGA A., Buseti C., Moro L., Sangalli M.E., Giordano F., *STP Pharma Sci*, vol 5, 83-88, 1995
- GEAR, J.S.S; Brodibb, A.J.M.; Ware A.; Manny I.; *Brit J. Nutr.*, vol 45, 77-92, 1981
- GUPTA V.K., Assmus M.V., Beckert T.E., *Int. J. Pharm*, vol 213, 93-102, 2001
- HAEBERLIN B., Rubas W, Nolen III H., *Pharma. Res.*, vol 10, 1553-1562, 1993
- HEALEY J.N.C., *Drug Delivery and GI tract*, NY, Ellis Horwood Lim, 83-96, 1989
- ISHIBASHI T., Hatano H., Kobayashi M., Mizobe M., *J. Control. Release*, vol 58, 215-222, 1999
- ISHIBASHI T., Hatano H., Kobayashi M., Mizobe M., *Int. J. Pharm.*, vol 168, 31-40, 1998
- KHRISNYAIA H.R., *J. Control. Release*, vol 55, 245-252, 1998
- KOPECEK J., *J. Control. Release*, vol 19, 121-130, 1992
- LAMPRECHT A., Yamamoto H., Takeuchi H., Kawashima Y., *Eur. J. Pharm. Biopharm*, vol 58, 37-43, 2004
- LAMPRECHT A., Yamamoto H., Takeuchi H., Kawashima Y., *Journal Controlled Release*, vol 90, 313-322, 2003
- LARSEN C., Harboe E., Johansen M., *Pharm. Res.*, vol 6, 1989
- LEOPOLD C.S, Eikeler D., *Drug. Dev. Ind. Pharm.*, vol 26, 12, 1239-1246, 2000
- LIU L., *Biomaterials*, vol 24, 333-3343, 2003
- LUPPI B., Cerchiara T., Bigucci F., Orienti I., *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, vol 55, 199-202, 2003
- MACLEOD G.S., Fell J.T., Collet J.H., Sharma H.L., *Int. J. Pharm*, vol 187, 251-257, 1999
- MCNEIL M.E., WO 90/09168, 1990
- MILOJEVIC S., *Int. J. Pharm*, vol 38, 85-94, 1995
- NYKANEN P, Lempaa S, Aaltonen M, Veski P., *Int J. Pharm.*, vol 229, 115-162, 2001
- RUBINSTEIN A., Sintov, CRC Press, 233-257, 1992
- RUBINSTEIN A., Tirosh B., Baluom M., Nassar T., *Journal Controlled Release*, vol 46, 59-73, 1997
- STEED K.P, Hooper G., Monti N., Benedetti, M.S, *Journal Controlled Release*, vol 49, 115-122, 1997
- TWEEUWES H., Watanabe S., Fell Z.; *Pharm. Res.*, vol 17, 89-97, 1993
- VAN DER MOOTER G., Samyn C., Kinget I., *Pharm. Res.*, vol 12, 244-247, 1992
- VERVOORT L. Kinget R, *Int. J. Pharm.*, vol 129, 185-190, 1996
- WATANEBE S., Kawai H., Katsuma M., Fukui M., *Drug Dev. Ind. Pharm*, vol 23, 893-913, 1998
- YANG L, Chu J.S., *Int. J. Pharm.*, vol 235, 1-15, 2002
- ZHANG H., Alsarra I.A., Neau S.H., *Int. J. Pharm.*, vol 239, 197-205, 2002
- ZOU M., Okamoto H., Cheng G., Hào X., *Eur. J. Pharm. Biopharm*, 1-6, 2004