

PERORALNI PULZIRAJOČI DOSTAVNI SISTEMI

ORAL PULSATILE THERAPEUTIC SYSTEMS

AVTOR / AUTHOR:

Izr. prof. dr. Odon Planinšek, mag. farm.

*Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo,
Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana*

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:

odon.planinsek@ffa.uni-lj.si

1 UVOD

Značilnost peroralnih pulzirajočih terapevtskih sistemov je sprostitve zdravilne učinkovine po vnaprej programiranem časovnem zamiku, pred katerim sproščanja ni. Razvijamo jih v različne namene: najpogosteje za izvajanje kronoterapije in za ciljanje distalnih delov prebavnega trakta, predvsem debelega črevesa. Slednje je smiselno v primeru zdravljenja vnetnih stanj, kot sta Chronova bolezen in ulcerativni kolitis, ter za povečanje biološke upo-

POVZETEK

Peroralni pulzirajoči dostavni sistemi zdravilnih učinkovin pogosto izkazujejo številne prednosti pred drugimi načini prirejanja sproščanja. Zdravilno učinkovino sprostijo pulzno po intervalu brez sproščanja, ob ustreznem času, na ustreznem mestu v prebavni cevi in v ustreznem odmerku. Uporabljamo jih predvsem za učinkovine s kronofarmakološkim obnašanjem, tiste z izrazitim metabolizmom prvega prehoda, lokalno zdravljenje v prebavni cevi ali jih razvijamo za absorpcijo učinkovin v debelem črevesju z namenom systemskega delovanja. V članku predstavljamo osnovne koncepte pulzirajočih dostavnih sistemov, razloge za njihov razvoj ter sestavo in mehanizme prirejanja sproščanja zdravilnih učinkovin iz primernih farmacevtskih oblik.

KLJUČNE BESEDE:

kronoterapija, pulzirajoči terapevtski sistemi, časovno nadzorovano sproščanje, mestno specifično sproščanje, peroralne farmacevtske oblike

ABSTRACT

Oral pulsatile drug delivery systems show many superior performance characteristics when compared to other approaches for controlled release. They deliver the right dose of a drug in a burst, followed by periods of no release at the right time and at the right site in the gastrointestinal tract. They are beneficial for active pharmaceutical ingredients with chronopharmacological behavior, and for drugs that show significant first-pass metabolism, local diseases treatment in gastrointestinal tract or improved systemic absorption of active pharmaceutical ingredient in colon. In the article, basic concepts of pulsatile therapeutic systems are introduced, the reasons for their development are explained together with composition and mechanisms of the drug release modification from the appropriate dosage forms.

KEYWORDS:

chronotherapy, pulsatile therapeutics systems, time controlled release, site specific release, oral dosage forms

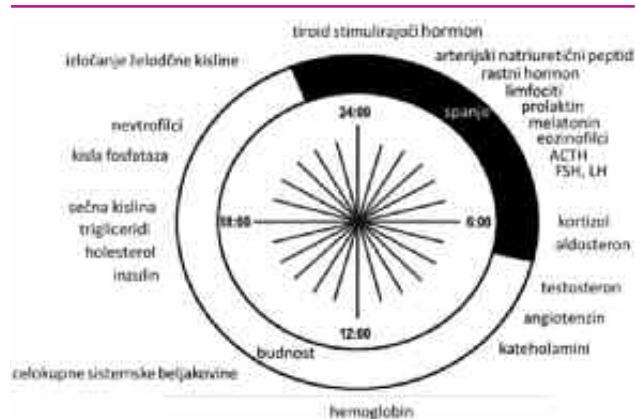
ravnosti peroralno apliciranih beljakovinskih zdravilnih učinkovin (1-4). Pri tem je treba najprej zaobiti težavo, povezano z neponovljivim časom prehoda zdravila skozi



želodec z izdelavo gastrozistentne obloge, medtem ko naj bi bil prehod zdravila skozi tanko črevo bolj konstanten (3 ± 1 ure) in omogoča lažje načrtovanje zakasnitve sproščanja (5, 6). Z izdelavo pulzirajočih dostavnih sistemov lahko zmanjšamo pre-sistemski metabolizem zdravilne učinkovine ali preprečimo razvoj farmakološke tolerance (7, 8). V določenih primerih lahko z njihovo uporabo omejimo razmnoževanje rezistentnih mikroorganizmov (9) ter preprečimo neželene učinke zdravilnih učinkovin, ki jih apliciramo hkrati in vstopajo v medsebojne interakcije (9).

2 PULZIRAJOČI SISTEMI IN KRONOTERAPIJA

V literaturi najdemo mnoge primere uporabe kronoterapije pri zdravljenju različnih bolezenskih stanj. Pri tem načinu zdravljenja izhajamo iz vedenja, da mnogi biološki procesi v telesu oscilirajo cirkadiano, kar pomeni s periodo 24 ur. Sinhronizirani so s tako imenovano notranjo biološko uro, ki je povezana s ciklom budnosti in spanja. Nadzira jih suprahiazmatično jedro v hipotalamusu. Raziskave kažejo, da naj bi predvsem svetloba vplivala na gene, ki nadzirajo notranjo uro organizma, določene vplive pa imajo verjetno še mnogi drugi dejavniki okolja (10). Fiziološka nihanja znanimo kot spremenjen srčni utrip, nihanje telesne temperature, spremembe v celični delitvi ali menjavanju spanja in budnosti. Normalna funkcija pljuč prav tako sledi cirkadianemu ritmu z zmanjšano aktivnostjo med spanjem. Za šte-



Slika 1: Časovni 24-urni diagram, ki prikazuje največjo koncentracijo različnih biokemijskih kazalcev (prirejeno po 15, 16).

Figure 1: 24 h clock diagram of the time, when physiological or biochemical function shows a peak (adopted from 15, 16)

vilne hormone v telesu je značilno ciklično ali pulzirajoče sproščanje, med katerim se vzdržuje njihova bazalna koncentracija (11-13). Konstantno sproščanje hormonov bi namreč povzročilo hormonsko neravnovesje, kar bi poleg hormonske neodzivnosti receptorjev povzročilo nastanek vrste neželenih učinkov (14). Pulzirajoče sproščanje iz različnih žlez in organov je značilno za vse endogene hormone hipofize, mineralokortikoide, glukokortikoide, kateholamine, spolne hormone, parathormon, inzulin in glukagon (slika 1) (13).

Tudi pojavnost in intenzivnost simptomov mnogih boleznih se spreminjata znotraj 24-urnega cikla. Zato lahko mnogim boleznim pripisujemo cirkadiani ritem in za nekatere izdelujemo pulzirajoče dostavne sisteme (preglednica 1)

Preglednica 1: Bolezenska stanja, za katera je smiselno razvijati pulzirajoče dostavne sisteme (17).

Table 1: Diseases requiring pulsatile drug delivery systems (17).

Bolezen	Kronološko obnašanje	Terapevtska skupina zdravilnih učinkovin
Peptični ulkus	Izločanje kisline popoldan in ponoči	Zaviralci receptorjev H_2
Astma	Pojavljanje napadov ponoči ali zgodaj zjutraj	β_2 agonisti, antihistaminiki
Kardiovaskularne bolezni	Krvni tlak je najnižji med spanjem, nato pa proti jutru narašča in je najvišji ob prebujanju	Nitroglicerini, zaviralci kalcijevih kanalov, inhibitorji acetilholin-esteraze
Artritis	Bolečine izražene ponoči in zjutraj	Nesteroidni antirevmatiki, glukokortikoidi
Hiperholesterolemija	Sinteza holesterola je ponoči večja kot podnevi	Statini

Crkadiani ritem vpliva tudi na procese absorpcije, distribucije, metabolizma in eliminacije. Posledica je spremenljivost biološke uporabnosti in odziva tarčnih celic na zdravilno učinkovino. Zaradi dinamičnih bioloških procesov je stalna dostava zdravilne učinkovine tako nepotrebna kot neželena (14, 18, 19).

Na peroralno absorpcijo zdravilne učinkovine primarno vpliva njena vodotopnost. Čas praznjenja želodca, njegova motiliteta, izločanje kisline ter prekrvavitev se tekom dneva močno spreminjajo, kar vpliva tako na raztapljanje kot na hitrost in obseg absorpcije zdravilne učinkovine (20). Podobno lahko trdimo tudi za druge načine in mesta dajanja zdravil. Pretok krvi in s tem porazdeljevanje zdravilne učinkovine v telesu je odvisen od številnih dejavnikov, vključno s simpatičnim in parasimpatičnim sistemom, ki ima poznano časovno odvisno aktivnost (21, 22). Na porazdeljevanje zdravilne učinkovine vplivajo še plazemske beljakovine, kot sta albumin in α_1 kisli glikoprotein, saj njune koncentracije časovno nihajo. Največji porast lahko ugotovimo sredi dneva, kar je povezano s količino proste učinkovine v plazmi (16, 23).

Na primeru kortizola in njegovega metabolita, ki nastaja v jetrih, so raziskovalci dokazali cirkadiane spremembe v aktivnosti encima CYP3A in s tem pomembnost dnevnega nihanja aktivnosti jetrnih encimov na delovanje zdravil (24, 25).

Ledvične fiziološke funkcije, kot so glomerulna filtracija, tubularna resorpcija, pH urina ter prekrvavitev ledvic, izkazujejo časovno odvisno delovanje. Vse navedene funkcije dosegajo višje vrednosti med dnevom. Ritmično spreminjanje pH urina naj bi tako pojasnilo vzrok, zakaj se kisle zdravilne učinkovine izločijo iz telesa hitreje, če jih bolnik vzame v večernih urah (15, 26).

Podobno se dogaja s sekundarnimi prenašalci, potmi metabolizma ter razmerji med vezano in nevezano obliko zdravilne učinkovine. Poleg farmakokinetičnih vplivov na delovanje zdravilne učinkovine obstajajo na celični in subcelični ravni biološki ritmi, ki lahko povzročijo časovno odvisne spremembe v farmakodinamiki in s prvimi niso povezane. Vzrok za to je ritmično spreminjanje konformacije in števila receptorjev. Na koncu se tako želeni kot neželeni učinki zdravil bistveno razlikujejo v odvisnosti od časa jemanja zdravila (16, 23, 24).

Cirkadiani vpliv farmakodinamike na zdravljenje so pokazali s konstantno 24-urno infuzijo ranitidina, ki ga uporabljamo kot H_2 antagonist za zdravljenje duodenalne razjede. Učinkovina vpliva na zmanjšano izločanje želodčne kisline, zaradi česar se poviša pH v želodcu. Rezultati so pokazali, da je terapevtski učinek zdravila zmanjšan v nočnem in povečan v dnevnem času infuzije. Na ta način so dokazali prisotnost nočne rezistence na blokado receptorjev H_2 (27, 28).

Predvsem pri zdravilih z ozkim terapevtskim oknom in visokim tveganjem za pojav neželenih učinkov, ko plazemska koncentracija preseže terapevtsko mejo, je smiselno proučevati področje farmakodinamike, ki ga imenujemo kronotoksikologija. Le-ta proučuje časovno odvisne spremembe v pojavnosti in stopnji neželenih učinkov zdravil, ki pri bolnikih vodijo v intoleranco (23). S testi na živalih so ugotovili, da se velikost letalnega odmerka fenobarbitala spreminja z letnim časom, ko to učinkovino apliciramo, in je julija bistveno manjša kot januarja. Takšni rezultati kažejo, da so toksični učinki zdravil lahko povezani tako z uro dajanja kot z letnim obdobjem (29).

Namen kronoterapije je torej dostava zdravilne učinkovine na mesto delovanja v telesu v večji koncentraciji takrat, ko je to najbolj potrebno. Za doseg optimalnega rezultata zdravljenja mora njeno sproščanje sovpadati s telesnim cirkadianim ritmom. Ob tem mora potekati z biološkimi determinantami bolezni (30). Na osnovi poznavanja teh determinant lahko optimiziramo čas jemanja zdravila in odmerek zdravilne učinkovine. Kronoterapija upošteva različne spremenljivke kronofarmakologije, kronofarmakokinetike, kronofarmakodinamike in biološkega ritma, kot so perioda,



Slika 2: Idealna kronoterapija, ki poveča učinkovitost zdravljenja, kakovost življenja in komplanco bolnikov ter zmanjša pojavnost neželenih učinkov, mora upoštevati lastnosti cirkadianega ritma, kronofarmakologije ter lastnosti primernega dostavnega sistema (prirejeno po 31).

Figure 2: Design and development of new ideal chronotherapy that increases drug therapy outcomes, life quality and compliance with reduced side effects must be developed in accordance with circadian rhythm of human body, chronopharmacology and drug delivery system properties (adopted from 31).

amplituda, nivo in faza, z namenom povečanja učinkovitosti zdravljenja, compliance bolnikov ter zmanjšanja pojavnosti neželenih učinkov, povezanih z zdravili. Za uspešno krototerapijo je treba razviti in izdelati ustrezen kronodostavni terapevtski sistem (slika 2) (31-33).

3 DELITEV IN OPIS PULZIRAJOČIH DOSTAVNIH SISTEMOV

Peroralne pulzirajoče dostavne sisteme lahko najprej razdelimo na enoentne ali večentne, te pa nato na posamezne podskupine. Vsaka od obeh ima glede zgradbe določene specifičnosti, mehanizmi zadrževanja sproščanja zdravilne učinkovine pa so v večini zelo podobni. Delimo jih na časovno nadzorovane ali mestno specifične. Pri časovno nadzorovanih terapevtskih sistemih je profil sproščanja zdravilne učinkovine določen s formulacijskimi parametri, pri terapevtskih sistemih, kjer se učinkovina sprosti na želenem mestu, pa s parametri, povezanimi z gastrointestinalnim okoljem. Najpogosteje razvijamo sisteme z zakasnjnim sproščanjem zdravilne učinkovine v obliki enega pulza, redkeje v obliki dveh. Uporaba več-pulznih sistemov je za peroralno dajanje zdravil manj smiselna.

3.1 ČASOVNO NADZOROVANI SISTEMI

Uporabimo lahko dostavne sisteme zdravilnih učinkovin, ki temeljijo na osmozi, vsebujejo obloge, ki nabrekajo, erodirajo oziroma se raztapljajo, imajo sposobnost plavanja v

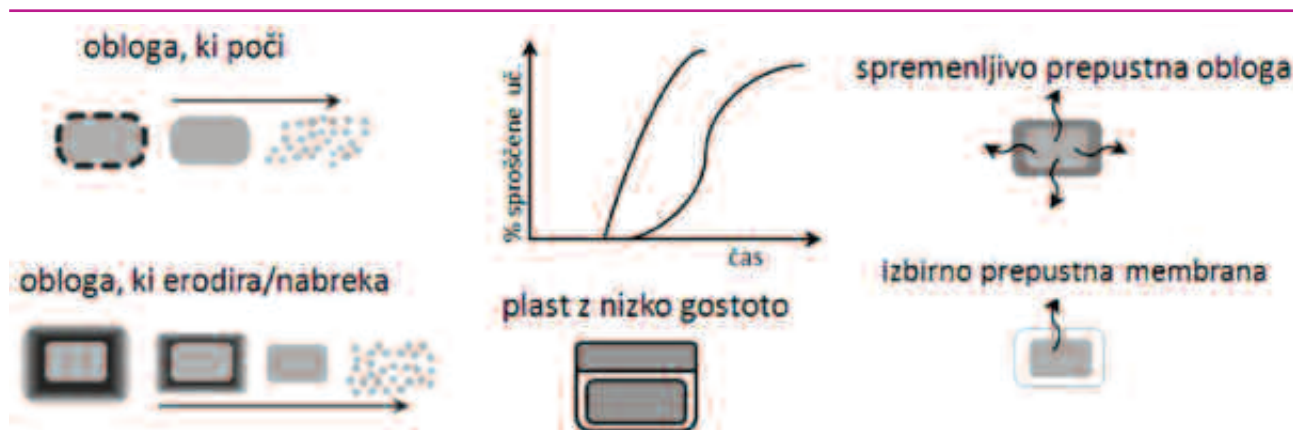
želodcu ali pa sisteme, katerih obloga po določenem časovnem intervalu počí (slika 3).

Sistemi aktivirani z osmoznim tlakom

Ob dajanju voda zaradi osmoznega tlaka prehaja v terapevtski sistem skozi izbirno prepustno membrano, povzroči nabrekanje polimera, ki prične izpodrivati raztopino učinkovine, in njeno sproščanje v okoliški medij. CHRONSET™ je terapevtski sistem, ki omogoča sprostitvev najmanj 80 % učinkovine v 15 minutah in je namenjen absorpciji beljakovin v debelem črevesu oziroma sproščanju mukoadhezivnih delcev v distalnih delih prebavne cevi (35, 36).

Plavajoči pulzirajoči sistemi

Ti sistemi imajo majhno gostoto, ki jim omogoča zadrževanje v želodcu in so neobčutljivi na spreminjanje pH v tem okolju, njegovo vsebino in praznjenje. Lahko so enoentni (plavajoče tablete) ali večentni (mikrokapsule, pelete, zrnca). Sistemi so primerni za učinkovine, ki se absorbirajo v želodcu oziroma v tem delu prebavne cevi delujejo lokalno. Primerne snovi za izdelavo so predvsem polisaharidi, pri katerih s premreženjem dosežemo ustrezno kinetiko sproščanja in netopnost v želodcu. Badve in sodelavci so s premreženjem pektina izdelali votle sfere z zdravilno učinkovino, ki so plavale v želodcu med 5 in 10 ur, sproščanje učinkovine pa je bilo minimalno. Po potopitvi v želodčnem soku naj bi olajšan prehod sfer v tanko črevo in povišanje pH medija omogočila hitro sprostitvev zdravilne učinkovine (37). Zou in sodelavci so jedrno tableto z zdravilno učinkovino s stiskanjem obložili z erozivno oblogo iz hidroksipropilmetilceluloze. Na obloženo tableto so s stiskanjem dodali efervescentno plast, ki je omogočala zadrževanje tablete



Slika 3: Časovno odvisno sproščanje iz peroralnih pulzirajočih sistemov po stiku s topilom (prirejeno po 34).

Figure 3: Outline of the performance of coated delivery systems for oral pulsatile release on exposure to aqueous fluids (adopted from 34).

v želodcu in s tem programirano zakasnitev sproščanja učinkovine med 4 in 5 ur (38).

Pulzirajoči sistemi na osnovi spremenjene permeabilnosti obloge

Ti sistemi omogočajo sigmoidni profil sproščanja zdravilne učinkovine in naj bi bili primerni za njeno delovanje v kolonu. Sproščanje omogoča spremenjena permeabilnost obloge, do katere pride v prisotnosti nasprotnih ionov. Narisawa in sodelavci so izdelali mikrokapsule s teofilinom in paracetamolom ter jih obložili z Eudragitom RS. Sproščanje učinkovine iz jeder, ki niso vsebovala sukcininske kisline, je bilo upočasnjeno. Dodatek sukcininske kisline (ki se je med različnimi kratkoverižnimi organskimi kisljinami pokazala kot najboljša) je povzročil hidratacijo kvartarnih amonijevih skupin v polimeru, bistveno izboljšal hidratacijo in permeabilnost obloge in omogočil sigmoidni profil sproščanja. Z ustrežno debelino nanosa obloge so raziskovalci dosegli zakasnitev sproščanja do 5 ur (39).

Sistemi z oblogo, ki nabreka/erodira

Pri sistemih, ki erodirajo, rezervoar z zdravilno učinkovino obložimo z vodotopno ali erozivno oblogo, ki se počasi raztaplja in učinkovino sprosti po izbranem časovnem zamiku. Takšen sistem predstavlja s hidroksipropilmetilcelulozo obložena tableta, prevlečena z acidorezistentnim filmom. Časovni zamik sproščanja zdravilne učinkovine dosežemo predvsem s spremembo dolžine verige polimera in debelino obloge. Nekoliko drugačna je obloga iz karnavbovega ali čebeljega voska z dodanimi površinsko aktivnimi snovmi. Ob stiku z vodo obloga erodira oziroma tvori emulzijo po časovnem zamiku, ki je neodvisen od motilitete prebavne cevi, pH, časa zadrževanja v želodcu in encimske aktivnosti (40).

Sistemi z oblogo, ki počí

Terapevtski sistemi z oblogo, ki počí, temeljijo na dvojnih oblogah, ki prekrivajo jedro, v katerem je učinkovina. Prva obloga je lahko efervescentna (sestavljata jo citronska kislina in natrijev bikarbonat) ali vsebuje komponente, ki nabrekajo (superrazgrajevala). Druga obloga je netopna, vendar prepustna za vodo. Njeno pokanje je odvisno od mehanskih lastnosti polimera in ga lahko zakasnimo z večanjem debeline, zmanjšanjem vsebnosti tvorilcev por ali z zmanjšanjem vsebnosti nabrekajočega polimera v prvi oblogi (41).

Časovno nadzorovano sproščanje iz kapsule

Splošno so ti sistemi sestavljeni iz telesa kapsule, ki je nevodotopna, in čepa, ki zagotavlja definiran zakasnitveni in-

terval pred sprostitvijo učinkovine in temelji na nabrekanju, eroziji ali raztapljanju. Podjetje R. P. Scherer International Corporation je razvilo sistem Pulsincap™, pri katerem zakasnitev sproščanja dosežejo z uporabo čepa, s katerim zaprejo nevodotopno telo kapsule in ga prekrijejo z vodotopnim pokrovom. Kapsula je obložena z gastrozistentno oblogo, ki preprečuje težave, povezane z neenakomernim praznjenjem želodca. Čep se po zakasnitvi zaradi nabrekanja ali erozije odstrani in omogoči pulzno sprostitvev učinkovine iz telesa kapsule (42). Löbenberg in sodelavci so razvili kapsulo, ki omogoča dvopulzno sproščanje zdravilne učinkovine. Prvi odmerek učinkovine se nahaja pod pokrovom vodotopne kapsule, ki omogoča takojšnje sproščanje. Telo kapsule predstavlja izbirno prepustna membrana in je napolnjeno z osmozno aktivno snovjo in drugim odmerkom učinkovine, ki se sprosti, ko osmozni sistem izpodrine čep v zgornjem delu kapsule (slika 4) (43).

3.2 MESTNO SPECIFIČNI SISTEMI

Sistemi, ki izkoriščajo spremenljive pH vrednosti prebavne cevi

Razliko v pH vrednosti med želodcem in drugimi deli prebavne cevi že dolgo izkoriščamo za izdelavo peroralnih farmacevtskih oblik. pH je najnižji v želodcu in zavzame vrednosti od 1,2 navzgor, v proksimalnem delu tankega črevesa je 6,6, v distalnem pa okrog 7,5. V kolonu vrednost spet pade pod 7,0. Sproščanje izven želodca je želeno predvsem pri učinkovinah, ki so v kislem mediju kemijsko nestabilne, jih razgradijo encimi želodca ali izkazujejo neželene učinke v tem delu prebavil. Gastrozistentne obloge so v kislem ne-



Slika 4: Zgradba kapsule, ki omogoča dvopulzno sproščanje učinkovine (prirejeno po 43).

Figure 4: The pulsatile capsule designed for two drug doses (adopted from 43).



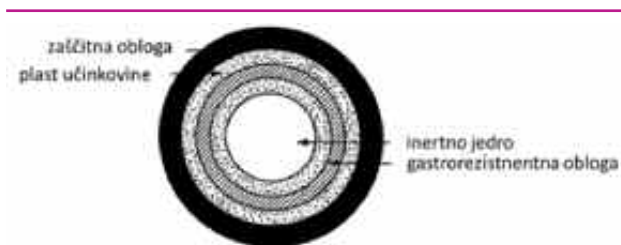
topne, ob porastu pH pa postanejo topne oziroma prepuščajo tekočine v črevesju. Najpogosteje so to šibko kisli polimeri, ki so pri nizkem pH protonirani in s tem netopni, pri povišanem pH njihove funkcionalne skupine ionizirajo, kar povzroči raztapljanje obloge in s tem sproščanje učinkovine iz jedra farmacevtske oblike. Ciljanje učinkovine v specifične regije prebavne cevi uporabljamo, kadar želimo izvajati lokalno zdravljenje, povečati učinkovitost zdravil in zmanjšati odmerke. Ko je absorpcija učinkovine omejena na specifična mesta prebavne cevi, lahko s pulzirajočim sistemom, ki omogoča hitro in celovito sprostitvev odmerka, povečamo njeno biološko uporabnost (44).

V literaturi najdemo opis več obloženih peroralnih farmacevtskih oblik, ki temeljijo na spremenljivem pH v različnih delih črevesja. Schellekens in sodelavci so izdelali sistem, pri katerem gastrorezistentna obloga (Eudragit, celulozni acetatftalat, celulozni acetatsukcinat) vsebuje nabrekajočo komponento (premreženo karboksimetilcelulozo), ki po prehodu skozi želodec in ustrezni spremembi pH erodira in hkrati močno nabreka ter s tem omogoči hiter razpad farmacevtske oblike in pulzno sprostitvev zdravilne učinkovine (45).

Burnside in sodelavci so izdelali večslojne pelete, ki učinkovino (sol amfetaina) sproščajo v obliki dveh pulzov. Odmerka učinkovine deli gastrorezistentna obloga (slika 5). Medtem ko se prvi sprosti takoj po zaužitju zdravila, se drugi, ki je pod gastrorezistentno oblogo, sprosti pri pH nad 4,5 v intervalu dvajsetih minut. Z opisano formulacijo znaša čas do maksimalne plazemske koncentracije učinkovine 7 do 10 ur (46).

Sistemi, ki izkoriščajo prisotnost encimov v prebavni cevi

V debelem črevesju naj bi bilo 400 različnih vrst bakterij s koncentracijo 10^{11} na gram. V preteklosti smo za doseg sproščanja učinkovine v debelem črevesju uporabili polimere, premrežene z azoaromatično skupino. Zaradi



Slika 5: Večslojno obložena peleta z dvopulznim sproščanjem učinkovine.

Figure 5: Multi-layer coated pellets with two-pulse drug release.

potencialne kancerogenosti danes uporabljamo naravne polisaharide, kot so amiloza, hitosan, dekstran, gumi iz zrn rožičevca in pektin, ki jih v debelem črevesu razgrajujejo bakterijske polisaharaze. V izogib težavam s prehitrim sproščanjem učinkovine zaradi velike hidrofilnosti jih mešamo z netopnimi polimeri (44).

4 ZAKLJUČEK

Razvoj peroralnih pulzirajočih dostavnih sistemov zdravilnih učinkovin je smiseln predvsem na področju kronoterapije. Uporaba sistemov, ki učinkovino sproščajo s kinetiko nič-tega ali prvega reda, je pri zdravljenju mnogih bolezenskih stanj namreč manj učinkovita. Glede na princip zadrževanja sproščanja učinkovine jih delimo na časovno nadzorovane in mestno specifične. Razvijamo lahko enoenotne ali več-enotne farmacevtske oblike. Najpogosteje uporabljamo obložene sisteme, pri katerih spreminjamo vrsto polimera in njegovo debelino. V bližnji prihodnosti lahko pričakujemo porast števila zdravil s pulzirajočim sproščanjem zdravilne učinkovine predvsem v obliki večslojno obloženih pelet.

5 LITERATURA

1. Friend DR. New oral delivery systems for treatment of inflammatory bowel disease. *Adv Drug Deliv Rev* 2005; 57: 247-265.
2. Haupt S, Rubinstein A. The colon as a possible target for orally administered peptide and protein drugs. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst.* 2002; 19: 499-551.
3. Bourgeois S, Harvey R, Fattal E. Polymer colon drug delivery systems and their application to peptides, proteins, and nucleic acids. *Am J Drug Deliv.* 2005; 3: 171-204.
4. Maroni A, Zema L, Del Curto MD et al. Oral colon delivery of insulin with the aid of functional adjuvants. *Adv Drug Deliv Rev* 2012; 64: 540-556.
5. Davis SS. The design and evaluation of controlled release systems for the gastro-intestinal tract. *J Control Release* 1985; 2: 27-38.
6. Gazzaniga A, Giordano F, Sangalli ME, Zema L. Oral colon-specific drug delivery: design strategies. *STP Pharma Prat* 1994; 4: 336-343.
7. Bussemer T, Otto I, Bodmeier R. Pulsatile drug-delivery systems. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst.* 2001; 18: 433-458.
8. Stubbe BG, De Smedt SC, Demeester J. "Programmed polymeric devices" for pulsed drug delivery. *Pharm Res* 2004; 21: 1732-1740.

9. Sawada T, Sako K, Yoshihara K et al. Timed-release formulation to avoid drug-drug interaction between diltiazem and midazolam. *J Pharm Sci* 2003 ; 92: 790-797.
10. Circadian Rhythms Fact Sheet.
https://www.nigms.nih.gov/Education/Pages/Factsheet_CircadianRhythms.aspx. Dostop: 01-04-2016.
11. P. H. Redfern, J.M. Waterhouse, D.S. Minors. Circadian rhythms: principles and measurement. *Pharmacol Ther* 1991; 49 (3): 311-327.
12. H. McWatters, J.C. Dunlap, A.J. Millar. Circadian rhythms: clocks for the real world. *Curr Biol* 1999; 9: 633-635.
13. J. D. Veldhuis. Pulsatile hormone secretion: mechanisms, significance and evaluation. In: D. Lloyd, E. Rossi. *Ultradian Rhythms from Molecules to Mind: A New Vision of Life*. New York: Springer, 2008: 229-248.
14. S. E. Sauder, M. Frager, G. D. Case, R. P. Kelch, J. C. Marshall. Abnormal patterns of pulsatile luteinizing hormone secretion in women with hyperprolactinemia and amenorrhea: responses to bromocriptine. *J Clin Endocrinol Metab* 1984; 59 (5): 941-948.
15. Odho S. Chronotherapeutic strategy: Rhythm monitoring, manipulation and disruption. *Adv Drug Deliv Rev* 2010; 62 (9-10): 859-875.
16. S. Odho. Chronopharmaceutics: pharmaceuticals focused on biological rhythm. *Biol Pharm Bull* 2010; 33 (2): 159-167.
17. Raghavendra Rao NG, Soumya P, Revathi K, Sanjeev Nayak B. A review on pulsatile drug delivery system. *Int Res J Pharm* 2013; 4(3): 31-44.
18. G. Labrecque, P. M. Belanger. Biological rhythms in the absorption, distribution, metabolism and excretion of drugs, *Pharmacol Ther* 1991; 52 (1): 95-107.
19. S. Y. Lin. Chronotherapeutic approach to design a thermoresponsive membrane for transdermal drug delivery. *Curr Drug Deliv* 2004; 1 (3): 249-263.
20. J.G. Moore, E. Englert Jr. Circadian rhythm of gastric acid secretion in man. *Nature* 1970; 226 (5252): 1261-1262.
21. N.H. Anderson, A.M. Devlin, D. Graham, J.J. Morton, C.A. Hamilton, J.L. Reid, N.J. Schork, A.F. Dominiczak. Telemetry for cardiovascular monitoring in a pharmacological study: new approaches to data analysis. *Hypertension* 1999; 33: 248-255.
22. K. Pleschka, A. Heinrich, K. Witte, B. Lemmer. Diurnal and seasonal changes in sympathetic signal transduction in cardiac ventricles of European hamsters. *Am J Physiol* 1996; 270: 304-309.
23. S. Odho. Changes in toxicity and effectiveness with timing of drug administration: implications for drug safety. *Drug Safety* 2003; 26 (14): 999-1010.
24. M.H. Smolensky, N.A. Peppas. Chronobiology, drug delivery, and chronotherapeutics. *Adv Drug Deliv Rev* 2007; 59 (9-10): 828-851.
25. M. Ohno, I. Yamaguchi, T. Ito, K. Saiki, I. Yamamoto, J. Azuma. Circadian variation of the urinary 6 beta-hydroxycortisol to cortisol ratio that would reflect hepatic CYP3A activity. *Eur J Clin Pharmacol* 2000; 55 (11-12): 861-865.
26. A. Reinberg, J. Clench, J. Ghata, F. Halberg, C. Abulker, J. Dupont, Z. Zagula-Mally. Circadian rhythms in the urinary excretion of salicylate (chronopharmacokinetics) in healthy adults. *CR Acad Sci Hebd Seances Acad Sci D* 1975; 280 (14): 1697-1699.
27. S.W. Sanders, J.G. Moore, K.N. Buchi, A.L. Bishop. Circadian variation in the pharmacodynamic effect of intravenous ranitidine. *Annu Rev Chronopharmacol* 1988; 5: 335-338.
28. C. White, M. H. Smolensky, S.W. Sanders, K.N. Buchi, J.G. Moore. Day - night and individual differences in response to constant-rate ranitidine infusion. *Chronobiol Int* 1991; 8(1): 56-66.
29. Bruguerolle B., Prat M, Douylliez C, Dorfman P. Are there circadian and circannual variations in acute toxicity of phenobarbital in mice? *Fundam Clin Pharmacol* 1988; 2(4):301-304.
30. Z. Khan, V. Pillay, Y.E. Choonara, L.C. du Toit. Drug delivery technologies for chronotherapeutic applications. *Pharm Dev Technol* 2009; 14 (6): 602-612.
31. S. Y. Lin, Y. Kawashima. Current status and approaches to developing press-coated chronodelivery drug systems. *J Control Release* 2012; 157 (3): 331-353.
32. A. Reinberg. Clinical chronopharmacology. An experimental basis for chronotherapy. In: A. Reinberg, M.H. Smolensky. *Biological Rhythms and Medicine, Cellular, Metabolic, Physiopathologic and Pharmacologic Aspects*. Springer: Heidelberg, 1983: 211-263.
33. A. E. Reinberg. Concepts of circadian chronopharmacology. *Ann N Y Acad Sci* 1991; 618: 102-115.
34. Maroni A, Zema L, Loreti G et al. Film coatings for oral pulsatile release. *Int J Pharm* 2013; 457: 362- 371.
35. Grove CF, P. J. Dehlinger PJ, Friend DR et al. Particles for oral delivery of peptides and proteins, WO Patent 0041740, 2000.
36. Fix JA, Dong LC, Pollock C et al. CHRONSET(R) oral osmotic system capabilities and applications, Abstracts of Papers of the American Chemical Society 213 1997: 233- MSE.
37. Badvea SS, Shera P, Kordeb A, Pawar AP. Development of hollow/porous calcium pectinate beads for floating-pulsatile drug delivery. *Eur J Pharm Biopharm* 2007; 65: 85-93.
38. Zou H, Jiang X, Kong L, Gao S. Design and Evaluation of a Dry Coated Drug Delivery System with Floating-Pulsatile Release. *J Pharm Sci*; 2008; 97(1): 263-272.
39. Narisawa S, Nagato M, Danyoshi C et al. An organic acid-induced sigmoidal release system for oral controlled-release preparations. *Pharm Res* 1994; 11(1): 111-116.
40. Sokar M, Hanafy A, Elkamel A, El-Gamal S. Design of Chronomodulated Drug Delivery System of Valsartan: In Vitro Characterization. *Indian J Pharm Sci* 2015; 77(4): 470-477.
41. Sunthongjeen S, Puttipipatkachorn S, Paeratakul O et al. Development of Pulsatile Release Tablets with Swelling and Rupturable Layer. *J Contr Rel* 2004; 95:147-159.
42. Mandel KG, Davis PD. Picosulfate dosage form US Patent 5631022 A 1997.
43. Löbenberg R, Kim JS, Amidon GL. Pharmacokinetics of an immediate release, a controlled release and a two pulse dosage form in dogs. *Eur. J Pharm Biopharm* 2005; 60: 17-23.
44. Kalantzi LE, Karavas E, Koutris EX, Bikiaris DN. Recent Advances in Oral Pulsatile Drug Delivery. *Recent Pat on Drug Deliv Formul* 2009; 3: 49-63
45. Schellekens RCA, Frijlink HW. pH controlled pulsatile delivery system, method for preparation and use of thereof. WO2007013794, 2007.
46. Burnside BA, Spring S, Guo X et al. Oral pulsed drug delivery system. US 6,605,300B1, 2003.

