

## بررسی اثر چند عامل مختلف بر قدرت چسبندگی پلیمرهای مخاط چسب در شرایط *in vitro*

دکتر سیدعلی رضا مرتضوی<sup>۱</sup>

### خلاصه

سیستم‌های دارورسانی مخاط چسب از جمله سیستم‌های نوین داروسازی می‌باشند که به علت توانایی چسبیدن و باقی ماندن بر سطوح مخاطی و آزادسازی آهسته و پیوسته داروی موجود در خود، در سال‌های اخیر مورد توجه خاصی قرار گرفته‌اند. هدف از انجام این تحقیق بررسی اثر چهار عامل مختلف مهم بر قدرت مخاط چسبی چند پلیمر مخاط چسب بود. در میان پلیمرهای بررسی شده، در کنار دو پلیمر شناخته شده کربوپل ۹۳۴P (C934) و سدیم کربوکسی متیل سلولز (CMC) که از قدرت مخاط چسبی بالایی برخوردار می‌باشند، کارآیی چند پلیمر دیگر نیز مورد بررسی قرار گرفتند. بدین منظور اقدام به ساخت دیسک‌های پلیمری شد و قدرت مخاط چسبی دیسک‌های تهیه شده به غشاء مخاطی روده موش (rat)، به عنوان غشاء مدل، با استفاده از دستگاه ویژه تعیین قدرت مخاط چسبی که در دانشکده طراحی شده بود، تعیین گردید. در کنار C934 و CMC، دیسک‌های پلیمری حاوی پلی اتیلن اکساید (PEO)، کارابا (Kar)، کاراگینان (Carr) و آلژینات سدیم (Na alg) نیز تهیه و مورد بررسی قرار گرفتند. قدرت مخاط چسبی دیسک‌های پلیمری تهیه شده در حضور و در غیاب بافر فسفات ۶/۰ pH، در دمای ۳۷°C و در pHهای مختلف از ۸/۰-۲/۲ و در شرایط هیدراته نمودن دیسک‌های پلیمری به مدت ۲ و ۵ دقیقه در بافر فسفات ۶/۰ pH، قبل از قرار دادن آنها در تماس با مخاط موکوسی مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین تأثیر اوره (به عنوان عامل مخرب پیوندهای هیدروژنی) بر قدرت مخاط چسبی دیسک‌های حاوی C934 و PEO مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به دست آمده نشان دادند که در میان پلیمرهای بررسی شده، PEO و Carr نیز همانند C934 و CMC از قدرت مخاط چسبی مطلوبی برخوردار می‌باشند و می‌توانند جهت تهیه سیستم‌های دارورسانی مخاط چسب استفاده شوند. همچنین مشخص شد که میزان هیدراسیون دیسک‌های پلیمری تأثیر مهمی بر قدرت مخاط چسبی آنها می‌گذارد و در صورت عدم هیدراته شدن مناسب و یا هیدراسیون بیش از حد، قدرت مخاط چسبی پلیمر شدیداً کاهش خواهد یافت. pH محیط نیز تأثیر مهمی بر قدرت مخاط چسبی دیسک‌ها دارد و بنابراین باید در طراحی یک سیستم مخاط چسب از پلیمری استفاده نمود که در ناحیه خاصی از بدن که می‌بایستی بچسبد، از قدرت مخاط چسبی بالایی برخوردار باشد. به علاوه مشخص شد که تشکیل پیوندهای هیدروژنی مابین پلیمر مخاط چسب و مخاط موکوسی در ایجاد یک پیوند مخاط چسب مستحکم نقش بسیار مهمی را بازی می‌کند.

واژه‌های کلیدی: قدرت مخاط چسبی، کربوپل ۹۳۴P، سدیم کربوکسی متیل سلولز، پلی اتیلن اکساید، کاراگینان، آلژینات سدیم، کارابا

## مقدمه

استفاده از پلیمرها و کوپلیمرهای زیست چسب (bioadhesive) و مخاط چسب (mucoadhesive) به عنوان حامل‌های دارورسانی نوین، به ویژه جهت رساندن داروهای با ساختمان پپتیدی و پروتئینی به بدن، علاقه متخصصان داروسازی را به خود جلب نموده است (۷، ۱۳، ۲۲). مواد مخاط چسب توانایی ایجاد واکنش با موکوس موجود بر سطح غشاء مخاطی و باقی ماندن بر مکان تماس برای مدت زمانی نسبتاً طولانی را دارند. سیستم‌های دارورسانی مخاط چسب را می‌توان در اشکال دارویی مختلف از جمله قرص، میکروکپسول، ژل، کرم، پماد، شیاف و محلول ویسکوز تهیه کرد و جهت دارورسانی در دهان، نواحی مختلف دستگاه گوارش به ویژه روده کوچک، چشم، گوش، بینی و واژن استفاده نمود (۱، ۵).

مواد مخاط چسب غالباً ماکرومولکول‌های هیدروفیلی هستند که در ساختمان زنجیره‌های خود دارای گروه‌هایی با توانایی تشکیل پیوند هیدروژنی (نظیر کربوکسیل و هیدروکسیل) می‌باشند. این مواد در تماس با مخاط موکوسی (و یا محیط اطراف) می‌توانند آب را به خود جذب کنند و متورم و هیدراته شوند و سپس با مخاط موکوسی واکنش برقرار نمایند و به موضع بچسبند. هرچند، جذب بیش از حد آب منجر به ایجاد یک موسیلاژ نرم از ماده مخاط چسب و در نتیجه شسته شدن آن از محل تماس می‌شود. از جمله مواد مخاط چسبی که در مطالعات مختلف به عنوان مواد موفق با قدرت مخاط چسبی مناسب شناخته شده‌اند، می‌توان به خانواده کربوپل‌ها (Carbopols)، به خصوص پلی کربوفیل و کربوپل ۹۳۴P، سدیم کربوکسی متیل سلولوز و کتیرا اشاره نمود (۲، ۲۰، ۲۲).

در مطالعات قبلی انجام شده مشخص شده است که زنجیره‌های پلیمری مواد مخاط چسب می‌توانند به داخل زنجیره‌های گلیکوپروتئین موجود در موکوس نفوذ کنند و بدین ترتیب لایه مستحکمی که مقاومت بالایی در برابر تخریب و حرکت از خود نشان می‌دهد را به وجود آورند. این مطالعات همچنین اهمیت تشکیل پیوندهای هیدروژنی مابین زنجیره‌های گلیکوپروتئین و پلیمر مخاط چسب را به عنوان عاملی مهم در تشکیل یک پیوند مخاط چسب قوی، بیان نموده‌اند (۱۱، ۱۴، ۱۵، ۱۶). بنابراین، پلیمری که بتواند به خوبی به داخل شبکه موکوس نفوذ کند و پیوندهای هیدروژنی متعددی را به وجود آورد، می‌تواند از قدرت مخاط چسبی مطلوبی برخوردار باشد.

در مطالعات رتولوژیک انجام شده بر روی ترکیب موکوس و

پلیمرهای مخاط چسب، مشخص گردید که درصد یونیزاسیون گروه‌های قابل یونیزه موجود در زنجیره‌های پلیمری (نظیر کربوکسیل) می‌تواند بر تشکیل یک پیوند مخاط چسب قوی مابین موکوس و زنجیره‌های پلیمری اثر بگذارد. مناسب‌ترین pH برای تشکیل پیوندهای مخاط چسب قوی، محدوده ۵/۰-۶/۰ تعیین گردیده است (۱۴، ۱۵).

یکی از روش‌های متداول جهت بررسی قدرت مخاط چسبی سیستم‌های دارورسانی مخاط چسب دستگاه کشش سنج (tensiometer) می‌باشد، که با اعمال نیرو بر پیوند ایجاد شده مابین سیستم مخاط چسب و مخاط موکوسی و شکستن آن می‌تواند حداکثر قدرت مخاط چسبی سیستم دارورسانی را تعیین نماید (۳، ۶، ۱۰، ۱۷، ۲۰).

در این تحقیق با استفاده از تکنیک مذکور اقدام به بررسی اثر چند عامل مختلف بر قدرت مخاط چسبی پلیمرهای مختلف در شرایط *in vitro* شد. در این میان چند پلیمر که قبلاً مطالعات اندکی بر روی آنها انجام شده بود نیز مورد بررسی قرار گرفتند. عوامل مختلفی که در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفتند، عبارتند از تأثیر حضور یک محیط مائی بر قدرت مخاط چسبی، اثر هیدراته کردن سیستم مخاط چسب قبل از چسباندن آن به مخاط بر قدرت مخاط چسبی سیستم، تأثیر pH محیط بر قدرت مخاط چسبی و اهمیت تشکیل پیوندهای هیدروژنی مابین مخاط موکوسی و پلیمر مخاط چسب بر قدرت مخاط چسبی سیستم.

## مواد و روش‌ها

مواد استفاده شده در این تحقیق عبارت بودند از کربوپل ۹۳۴P، سدیم کربوکسی متیل سلولوز با ویسکوزیته بالا (high grade viscosity)، پلی اتیلن اکساید با وزن مولکولی ۴۰۰۰۰ kDa و Carrageenan, Karaya، آلژینات سدیم، بافر فسفات با pH=۶/۰، بافر سیترات - فسفات در pHهای مختلف ۸/۰-۲/۲، اوره و لاکتوز.

روده موش صحرائی (rat)، نر، از نژاد N.M.R.I با سن حدود ۶-۸ هفته و میانگین وزن  $220 \pm 20$  گرم.

## روش تهیه دیسک‌های پلیمری

پلیمرهای مختلفی که در این تحقیق استفاده شدند، عبارت بودند از کربوپل ۹۳۴P (C۹۳۴)، سدیم کربوکسی متیل سلولوز (CMC)، پلی اتیلن اکساید (PEO)، آلژینات سدیم (Carr) Carrageenan و (Kar) Karaya, (Na alg).

داروسازی شهید بهشتی طراحی شده بود، استفاده شد (شکل ۱). در این تحقیق از روده موش صحرائی (rat) به عنوان غشاء مخاطی مدل استفاده شد. علت این انتخاب استفاده مکرر از این غشاء به عنوان یک مدل مناسب، در دسترس و ارزان بودن آن و استفاده در مطالعات پیشین انجام شده (۳،۱۷،۲۱) در شرایط *in vitro* جهت سنجش قدرت چسبندگی سیستم‌های دارورسانی مخاط چسب بود. بدین منظور روده پس از خروج از بدن حیوان از طول بریده و به طور کامل باز شد و توسط آب به آرامی شسته شد و مورد مصرف قرار گرفت.

جهت سنجش قدرت مخاط چسبی دیسک‌های پلیمری، سطح روی دو سکوی فوقانی و تحتانی دستگاه توسط روده موش پوشش داده و به کناره سکوها چسبانده شد. سکوی فوقانی از طریق نخ رابطی به یک ترازوی دیجیتال متصل شده بود و توانایی ثبت نیروی لازم برای شکستن پیوند بین دیسک پلیمری و روده موش را داشت.

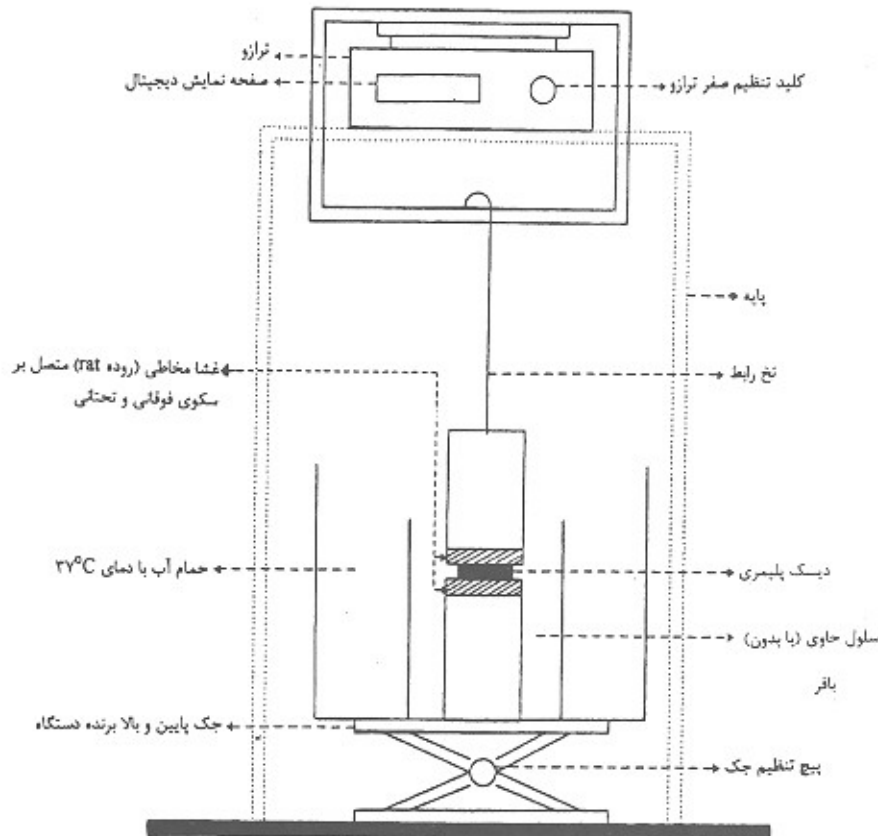
جهت بررسی کارایی پلیمرهای مخاط چسب مختلف، اقدام به تهیه دیسک‌های حاوی پلیمر گردید. بدین منظور مقدار ۶۰mg از پلیمر مربوطه با اعمال فشاری معادل با ۱ تن به مدت ۵ ثانیه، به دیسک‌های مدور با قطر ۷/۰mm تبدیل شدند.

دیسک‌های حاوی C۹۳۴ یا PEO همراه با لاکتوز یا اوره نیز پس از اختلاط پودرها به نسبت معین، همانند روش فوق تهیه شدند.

کلیه دیسک‌های تهیه شده پس از ساخت، در ظروف کاملاً سرپسته قرار داده شدند و جهت انجام مطالعات بعدی مورد استفاده قرار گرفتند.

#### روش ارزیابی قدرت مخاط چسبی دیسک‌های پلیمری

کلیه دیسک‌های پلیمری تهیه شده از نظر قدرت چسبندگی به مخاط موکوسی مورد ارزیابی قرار گرفتند. بدین منظور از دستگاهی که بر اساس منابع موجود (۳،۱۷،۲۰) در دانشکده



شکل ۱: شماتی از دستگاه سنجش قدرت چسبندگی دیسک‌های پلیمری به غشاء مخاطی

لاکتوز (به عنوان شاهد) و یا پلیمر و اوره با نسبت ۱:۱ یا ۱:۳ (۳ قسمت پلیمر) توسط اختلاط کامل پودرها و سپس تراکم پودر تهیه شدند.

قدرت مخاط چسبی دیسک‌های تهیه شده در محیط بافر فسفات با  $pH=6/0$  و دمای  $37^{\circ}C$  با استفاده از دستگاه مذکور در قسمت ارزیابی قدرت مخاط چسبی دیسک‌های پلیمری تعیین شد.

### نتایج

کلیه دیسک‌های پلیمری تهیه شده از نظر ظاهری مدور و دارای سطحی صاف و صیقلی بودند و از سختی مناسبی نیز برخوردار بودند. پس از ساخت، قدرت چسبندگی دیسک‌های تهیه شده به غشاء مخاطی روده موش، تحت تأثیر چند عامل مختلف مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصله در زیر آورده شده است:

۱- تأثیر محیط مائی بر قدرت مخاط چسبی دیسک‌ها  
نتایج حاصله از این بررسی در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱: قدرت چسبندگی دیسک‌های پلیمری مختلف به روده موش (rat) در حضور و غیاب محیط بافر فسفات با  $pH=6/0$  و دمای  $37^{\circ}C$  (انحراف معیار  $\pm$  میانگین،  $n=3$ ).

پلیمر موجود در دیسک	حداکثر قدرت چسبندگی در حضور بافر فسفات (میلی نیوتن)	حداکثر قدرت چسبندگی در غیاب بافر فسفات (میلی نیوتن)
CMC	$718/2 \pm 29/5$	$196/1 \pm 13/6$
C934	$727/7 \pm 19/9$	$140/9 \pm 11/4$
PEO	$723/5 \pm 24/1$	$139/8 \pm 8/8$
Carr	$601/3 \pm 19/7$	$98/6 \pm 9/3$
Na alg	$265/2 \pm 15/0$	$54/1 \pm 6/9$
Kar	$202/5 \pm 12/7$	$90/3 \pm 7/4$

همان‌طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، کلیه دیسک‌های بررسی شده در غیاب محیط مائی از قدرت چسبندگی کمتری برخوردار می‌باشند. بررسی آماری یافته‌ها توسط آزمون Student's t-test نیز حاکی از وجود اختلاف معنی‌دار ( $P < 0/05$ ) بین قدرت چسبندگی دیسک‌ها در محیط بافر فسفات با

جهت انجام آزمون، یک دیسک پلیمری مابین دو قطعه روده موش موجود بر روی سکوی فوقانی و تحتانی دستگاه قرار می‌گرفت و به مدت دو دقیقه در همین وضعیت باقی می‌ماند تا پیوندهای بین دیسک پلیمری و مخاط موکوسی برقرار شود. سپس با کمک جک پایین آورنده، دستگاه به آرامی پایین آورده شد تا پیوند بین دیسک پلیمری و روده موش شکسته شود و بیشترین نیروی ثبت شده بر روی ترازو بر حسب میلی نیوتن به عنوان حداکثر قدرت چسبندگی دیسک در نظر گرفته می‌شد.

عوامل مختلف بررسی شده بر روی دیسک‌های پلیمری

۱- بررسی قدرت مخاط چسبی دیسک‌های پلیمری در غیاب محیط مائی بدین منظور قدرت مخاط چسبی دیسک‌های پلیمری در غیاب یک محیط مائی مورد بررسی قرار گرفت و نتایج حاصل با حالتی که دیسک‌ها به طور کامل در محیط بافر فسفات با  $pH=6/0$  و دمای  $37^{\circ}C$  قرار داشتند، مقایسه شدند.

۲- بررسی اثر  $pH$  محیط بر قدرت مخاط چسبی دیسک‌های پلیمری

جهت بررسی اثر  $pH$  محیط بر قدرت مخاط چسبی دیسک‌های پلیمری، از بافر سیترات - فسفات در محدوده  $pH=8/0-2/2$  و دمای  $37^{\circ}C$  استفاده شد. بدین منظور دیسک‌های پلیمری به طور کامل در داخل بافر قرار گرفتند و قدرت مخاط چسبی آنها بر اساس روش مذکور در قسمت قبل تعیین گردید.

۳- بررسی اثر هیدراته نمودن دیسک‌های پلیمری قبل از تماس با مخاط بر قدرت مخاط چسبی آنها

بدین منظور دیسک‌های پلیمری قبل از قرار گرفتن بر سطح مخاط به مدت ۲ تا ۵ دقیقه در محیط بافر فسفات با  $pH=6/0$  قرار گرفتند و سپس مابین دو قطعه روده موش موجود بر روی سکوی فوقانی و تحتانی و دستگاه سنجش قدرت مخاط چسبی قرار داده شدند و قدرت مخاط چسبی آنها در محیط بافر فسفات با  $pH=6/0$  در دمای  $37^{\circ}C$  بر اساس روش مذکور در قسمت قبل تعیین گردید.

۴- بررسی اثر اوره بر قدرت مخاط چسبی دیسک‌های پلیمری

در این مطالعه از اوره به عنوان عامل مخرب و بازدارنده تشکیل پیوندهای هیدروژنی بین پلیمر و مخاط استفاده شد (۸،۹). جهت انجام این آزمون از دو پلیمر C934 و PEO استفاده گردید. بدین منظور دیسک‌های پلیمری حاوی پلیمر و

صورتی که به مدت ۲ دقیقه قبل از تماس با مخاط در بافر فسفات  $\text{pH}=6/0$  قرار داده شوند، هیدراته خواهند شد و قدرت چسبندگی آنها در مقایسه با دیسک‌هایی که قبل از تماس با مخاط هیدراته نشده‌اند، کاهش معنی‌داری را نشان می‌دهد ( $P < 0/05$ ). این کاهش برای دیسک‌هایی که به مدت ۵ دقیقه قبل از تماس با مخاط در بافر فسفات با  $\text{pH}=6/0$  قرار گرفته بودند، به مراتب شدیدتر از دیسک‌هایی بود که تنها به مدت ۲ دقیقه قبل از تماس، توسط بافر هیدراته شده بودند. لازم به ذکر است که دیسک‌های حاوی C۹۳۴ نیز پس از قرار گرفتن در محیط بافر فسفات با  $\text{pH}=6/0$  به مدت ۵ دقیقه قبل از تماس با مخاط، دچار کاهش اندکی در قدرت مخاط چسبی در مقایسه با دیسک‌هایی که پیش از تماس با مخاط هیدراته نشده بودند، شدند.

به طور کلی، در میان پلیمرهای بررسی شده، بیشترین میزان کاهش در قدرت چسبندگی در اثر هیدراته کردن دیسک قبل از تماس با مخاط در دیسک‌های حاوی CMC مشاهده شد و کمترین میزان کاهش در دیسک‌های حاوی C۹۳۴ مشاهده گردید.

#### ۴- تأثیر اوره بر قدرت مخاط چسبی دیسک‌های پلیمری

همان‌طور که پیشتر به آن اشاره شد، جهت انجام این بررسی از دو پلیمر C۹۳۴ و PEO استفاده گردید. بدین منظور دیسک‌های حاوی پلیمر و اوره و یا پلیمر و لاکتوز (به عنوان شاهد) به نسبت‌های ۱:۱ و ۱:۳ (۳ قسمت پلیمر) تهیه شدند و قدرت مخاط چسبی آنها تعیین گردید. نتایج به دست آمده در جدول ۴ نشان داده شده است.

در  $\text{pH}=6/0$  در مقایسه با وضعیت بدون حضور بافر بود. بیشترین قدرت چسبندگی در حضور و غیاب بافر فسفات توسط دیسک‌های حاوی CMC مشاهده شد. دیسک‌های حاوی C۹۳۴ و PEO نیز قدرت چسبندگی نسبتاً خوبی را از خود نشان دادند.

#### ۲- اثر $\text{pH}$ محیط بر قدرت مخاط چسبی دیسک‌ها

نتایج به دست آمده از این بررسی در جدول ۲ درج گردیده است. همان‌طور که در این جدول مشاهده می‌شود،  $\text{pH}$  محیط تأثیر زیادی بر قدرت مخاط چسبی دیسک‌ها دارد. در  $\text{pH}=2/2$  تمامی دیسک‌های بررسی شده کمترین قدرت مخاط چسبی را از خود نشان دادند. با افزایش  $\text{pH}$ ، قدرت مخاط چسبی افزایش پیدا کرد. حداکثر قدرت مخاط چسبی برای دیسک‌های حاوی C۹۳۴، PEO و Na alg در  $\text{pH}=7/0$  مشاهده شد. هر چند برای پلیمرهای Carr و Kar بیشترین قدرت مخاط چسبی در  $\text{pH}=6/0$  تعیین گردید. دیسک‌های حاوی CMC بیشترین قدرت مخاط چسبی را در  $\text{pH}=5/0$  از خود نشان دادند.

در کل، در میان پلیمرهای بررسی شده، CMC بیشترین قدرت مخاط چسبی را از خود نشان داد.

#### ۳- تأثیر هیدراته نمودن دیسک‌های پلیمری قبل از تماس با مخاط بر قدرت مخاط چسبی آنها

نتایج به دست آمده از این بررسی در جدول ۳ نشان داده شده است. بر اساس نتایج حاصله، مشخص گردید که تمامی دیسک‌های پلیمری به غیر از دیسک‌های حاوی C۹۳۴ در

جدول ۲: تأثیر  $\text{pH}$  بر قدرت چسبندگی دیسک‌های پلیمری مختلف به روده موش (rat) در محیط بافر سیترات - فسفات و دمای  $37^{\circ}\text{C}$  (انحراف معیار  $\pm$  میانگین،  $n=3$ )

پلیمر موجود در دیسک	حداکثر قدرت چسبندگی بر حسب میلی نیوتن				
	$\text{pH}=8/0$	$\text{pH}=7/0$	$\text{pH}=6/0$	$\text{pH}=5/0$	$\text{pH}=2/2$
CMC	$759/9 \pm 39/8$	$712/4 \pm 30/3$	$714/9 \pm 27/6$	$828/6 \pm 22/1$	$645/1 \pm 36/4$
C۹۳۴	$728/2 \pm 23/3$	$788/6 \pm 24/1$	$728/7 \pm 23/9$	$632/1 \pm 20/6$	$248/8 \pm 19/7$
PEO	$725/8 \pm 39/9$	$779/1 \pm 28/6$	$722/5 \pm 30/4$	$704/3 \pm 29/8$	$698/2 \pm 30/3$
Carr	$481/2 \pm 17/3$	$590/7 \pm 21/1$	$604/6 \pm 18/7$	$569/8 \pm 18/6$	$292/0 \pm 11/4$
Na alg	$310/6 \pm 18/1$	$548/4 \pm 43/8$	$266/1 \pm 11/3$	$242/4 \pm 16/2$	$207/9 \pm 10/6$
Kar	$151/7 \pm 12/5$	$189/7 \pm 13/4$	$200/9 \pm 10/8$	$177/8 \pm 12/3$	$106/1 \pm 14/5$

جدول ۳: تأثیر هیدراته نمودن دیسک‌های پلیمری مختلف به مدت ۲ و ۵ دقیقه در محیط بافر فسفات با  $pH=6/0$  بر قدرت چسبندگی آنها به روده موش (rat) در محیط بافر فسفات با  $pH=6/0$  و دمای  $37^{\circ}C$  (انحراف معیار  $\pm$  میانگین،  $n=3$ )

حداکثر قدرت چسبندگی بر حسب میلی نیوتن			پلیمر موجود در دیسک
بدون هیدراسیون قبلی	هیدراسیون دیسک به مدت ۲ دقیقه	هیدراسیون دیسک به مدت ۵ دقیقه	
۷۶۵/۴ $\pm$ ۲۶/۵	۲۸۱/۲ $\pm$ ۲۲/۸	۱۳۹/۷ $\pm$ ۱۸/۴	CMC
۷۳۲/۶ $\pm$ ۲۳/۶	۷۷۵/۸ $\pm$ ۲۵/۱	۶۹۱/۲ $\pm$ ۱۹/۳	C۹۳۴
۷۲۵/۱ $\pm$ ۱۹/۰	۳۵۹/۴ $\pm$ ۱۷/۷	۱۶۵/۹ $\pm$ ۱۰/۴	PEO
۶۰۰/۷ $\pm$ ۲۷/۱	۲۴۸/۱ $\pm$ ۱۹/۵	۱۱۹/۸ $\pm$ ۱۱/۹	Carr
۲۶۸/۸ $\pm$ ۱۱/۲	۱۰۲/۳ $\pm$ ۷/۸	۶۸/۲ $\pm$ ۶/۷	Na alg
۲۰۳/۱ $\pm$ ۱۰/۸	۸۷/۰ $\pm$ ۱۰/۱	۴۵/۱ $\pm$ ۶/۴	Kar

از نظر آماری نیز معنی دار شناخته شد ( $P < 0/05$ ). در انتها باید به این نکته اشاره نمود که لاکتوز یک ماده مخاط چسب نمی‌باشد و لذا حضور آن در دیسک‌های پلیمری مسلماً منجر به کاهش قدرت مخاط چسبی خواهد شد. هر چند، در این مطالعه با توجه به افزودن اوره به دیسک‌های پلیمری و در نتیجه کاهش میزان پلیمر مصرفی، جهت ثابت نگه داشتن وزن دیسک‌ها، نیاز

همان‌طور که در جدول ۴ مشخص می‌باشد، اوره که به عنوان عامل مخرب پیوندهای هیدروژنی مورد استفاده قرار گرفت، قادر به کاهش قدرت چسبندگی دیسک‌های حاوی C۹۳۴ و PEO به مخاط موکوسی در مقایسه با دیسک‌های شاهد حاوی پلیمر و لاکتوز بود. کاهش مشاهده شده در قدرت مخاط چسبی دیسک‌ها در مقادیر بالاتر اوره به مراتب بیشتر بود. این اختلاف

جدول ۴: اثر افزودن اوره به دیسک‌های حاوی C۹۳۴ و یا PEO بر قدرت چسبندگی دیسک‌های حاصله به روده موش (rat) در محیط بافر  $pH=6/0$  و دمای  $37^{\circ}C$  (انحراف معیار  $\pm$  میانگین،  $n=3$ )

محتویات دیسک	نسبت محتویات (اوره یا لاکتوز: پلیمر)	حداکثر قدرت چسبندگی بر حسب میلی نیوتن
لاکتوز / C۹۳۴	۳:۱	۵۲۰/۶ $\pm$ ۱۷/۳
اوره / C۹۳۴	۳:۱	۳۲۷/۱ $\pm$ ۱۹/۹
لاکتوز / C۹۳۴	۱:۱	۳۹۴/۸ $\pm$ ۱۳/۶
اوره / C۹۳۴	۱:۱	۲۱۸/۲ $\pm$ ۱۱/۷
لاکتوز / PEO	۳:۱	۵۸۸/۴ $\pm$ ۱۸/۳
اوره / PEO	۳:۱	۴۶۹/۵ $\pm$ ۲۰/۸
لاکتوز / PEO	۱:۱	۴۲۱/۹ $\pm$ ۱۸/۴
اوره / PEO	۱:۱	۲۳۷/۵ $\pm$ ۱۴/۷

امکان هیدراته شدن مناسب زنجیره‌های پلیمری وجود نداشته باشد، این سیستم از قدرت مخاط چسبی مطلوبی برخوردار نباشد. جهت رفع این مشکل می‌توان سطح سیستم مخاط چسب را قبل از مصرف توسط مقدار کمی آب مرطوب نمود.

در این مطالعه همچنین مشخص گردید که در کنار دو پلیمر شناخته شده CMC و C934 که از قدرت مخاط چسبی مطلوبی برخوردار می‌باشند، دو پلیمر Carr و PEO نیز که تاکنون مطالعات اندکی در رابطه با قدرت مخاط چسبی آنها انجام شده است می‌توانند از کارایی مناسبی برخوردار باشند و لذا می‌توان از آنها جهت تهیه سیستم‌های دارورسانی مخاط چسب استفاده نمود.

در بخش بعدی این مطالعه اقدام به بررسی اثر pH محیط بر قدرت مخاط چسبی دیسک‌های پلیمری تهیه شده، گردید. در نواحی مختلف بدن pH می‌تواند متغیر باشد و این امر می‌تواند بر کارایی و قدرت چسبندگی سیستم مخاط چسب تأثیر بگذارد.

نتایج به دست آمده (جدول ۲) نشان دادند که دو پلیمر آنیونی C934 و Carr، Na alg و Kar که همگی جزء خانواده پلی ساکاریدها می‌باشند و PEO که یک پلیمر کاملاً صناعی خنثی می‌باشد، استفاده شد. پس از ساخت دیسک‌های پلیمری، اثر چند عامل مختلف مهم بر قدرت مخاط چسبی دیسک‌های تهیه شده بررسی شد. در ادامه به بحث پیرامون نتایج به دست آمده از این مطالعات خواهیم پرداخت.

در بخش اول این مطالعه اقدام به بررسی اهمیت حضور یک محیط مائی بر قدرت چسبندگی پلیمرهای مخاط چسب شد. بدین منظور اقدام به بررسی قدرت مخاط چسبی دیسک‌های پلیمری تهیه شده در غیاب محیط مائی شد. نتایج حاصله (جدول ۱) نشان دهنده کاهش شدید در قدرت مخاط چسبی تمامی پلیمرهای بررسی شده بودند. بر اساس این یافته‌ها می‌توان به این نتیجه رسید که یک پلیمر خشک بعد از تماس با سطح مخاط می‌بایستی که به اندازه کافی هیدراته شود تا از قدرت مخاط چسبی مطلوبی برخوردار باشد. دلیل این حالت را می‌توان بدین ترتیب بیان نمود که هیدراسیون نا کافی یک پلیمر خشک سبب می‌شود که تمامی زنجیره‌های پلیمری نتوانند به خوبی باز شوند و حالت گسترده‌ای به خود بگیرند. این امر سبب کاهش در قدرت نفوذپذیری زنجیره‌ها و تشکیل پیوندهای هیدروژنی و در نتیجه کاهش قدرت مخاط چسبی سیستم دارورسانی می‌شود. این یافته با مطالعات قبلی (۵،۱۲) که بر اهمیت هیدراته شدن زنجیره‌های پلیمری ماده مخاط چسب جهت برقراری تماسی نزدیک و مطلوب با سطح مخاط و موکوس تأکید می‌کند، مطابقت دارد. بنابراین، پیش‌بینی می‌شود در بدن نیز در صورتی که یک سیستم دارورسانی مخاط چسب به صورت کاملاً خشک در تماس با محیطی قرار گیرد که

به استفاده از یک ماده بی‌اثر و غیر چسبنده نظیر لاکتوز جهت تهیه دیسک‌های شاهد (بدون اوره) با وزنی معادل دیسک‌های حاوی پلیمر اوره و انجام یک مقایسه صحیح بود و به همین دلیل از لاکتوز استفاده شد.

## بحث و نتیجه‌گیری

همان‌طور که قبلاً به آن اشاره شد، هدف از انجام این تحقیق بررسی پاره‌ای از عوامل مؤثر بر قدرت مخاط چسبی پلیمرهای مختلف در شرایط *in vitro* بود. بدین منظور از تکنیک کشش سنجی که از جمله رایج‌ترین روش‌های بررسی قدرت مخاط چسبی است، استفاده شد. در این مطالعه در کنار دو پلیمر C934 و CMC که از جمله شناخته شده‌ترین و قوی‌ترین پلیمرهای مخاط چسب می‌باشند (۵،۷،۲۰،۲۲)، چند پلیمر دیگر که مطالعات نسبتاً اندکی بر روی آنها انجام شده است نیز بررسی شدند. بدین منظور از سه پلیمر Carr، Kar و Na alg که همگی جزء خانواده پلی ساکاریدها می‌باشند و PEO که یک پلیمر کاملاً صناعی خنثی می‌باشد، استفاده شد. پس از ساخت دیسک‌های پلیمری، اثر چند عامل مختلف مهم بر قدرت مخاط چسبی دیسک‌های تهیه شده بررسی شد. در ادامه به بحث پیرامون نتایج به دست آمده از این مطالعات خواهیم پرداخت.

در بخش اول این مطالعه اقدام به بررسی اهمیت حضور یک محیط مائی بر قدرت چسبندگی پلیمرهای مخاط چسب شد. بدین منظور اقدام به بررسی قدرت مخاط چسبی دیسک‌های پلیمری تهیه شده در غیاب محیط مائی شد. نتایج حاصله (جدول ۱) نشان دهنده کاهش شدید در قدرت مخاط چسبی تمامی پلیمرهای بررسی شده بودند. بر اساس این یافته‌ها می‌توان به این نتیجه رسید که یک پلیمر خشک بعد از تماس با سطح مخاط می‌بایستی که به اندازه کافی هیدراته شود تا از قدرت مخاط چسبی مطلوبی برخوردار باشد. دلیل این حالت را می‌توان بدین ترتیب بیان نمود که هیدراسیون نا کافی یک پلیمر خشک سبب می‌شود که تمامی زنجیره‌های پلیمری نتوانند به خوبی باز شوند و حالت گسترده‌ای به خود بگیرند. این امر سبب کاهش در قدرت نفوذپذیری زنجیره‌ها و تشکیل پیوندهای هیدروژنی و در نتیجه کاهش قدرت مخاط چسبی سیستم دارورسانی می‌شود. این یافته با مطالعات قبلی (۵،۱۲) که بر اهمیت هیدراته شدن زنجیره‌های پلیمری ماده مخاط چسب جهت برقراری تماسی نزدیک و مطلوب با سطح مخاط و موکوس تأکید می‌کند، مطابقت دارد. بنابراین، پیش‌بینی می‌شود در بدن نیز در صورتی که یک سیستم دارورسانی مخاط چسب به صورت کاملاً خشک در تماس با محیطی قرار گیرد که

قدرت مخاط چسبی آن پس از دو دقیقه هیدراسیون در بافر فسفات با  $pH=6/0$  در مقایسه با حالتی که دیسک از قبل هیدراته نشده بود، دچار افزایش اندکی شده بود، در سایر دیسک‌ها، هیدراسیون به مدت دو دقیقه در بافر فسفات با  $pH=6/0$  منجر به کاهش چشمگیری در قدرت مخاط چسبی شد. این کاهش در قدرت مخاط چسبی در دیسک‌هایی که به مدت ۵ دقیقه هیدراته شده بودند به مراتب بیشتر بود. این یافته را می‌توان چنین توجیه نمود که در تمامی دیسک‌های پلیمری بررسی شده، به غیر از دیسک‌های حاوی C۹۳۴، هیدراسیون پلیمر قبل از قرار دادن آن بر سطح مخاط سبب جذب سریع آب توسط زنجیره‌های پلیمری موجود در سطح خارجی دیسک، باز شدن کامل آنها و در نهایت جذب بیش از حد آب (over-hydration) توسط پلیمر و تشکیل یک لایه ژل مانند ضعیف در سطح تماس آنها می‌شود. پس از قرار دادن این دیسک‌های بیش از حد هیدراته شده بر سطح مخاط، پیوندهای چسبیده ضعیفی مابین زنجیره‌های پلیمری و مخاط برقرار خواهد شد. در نتیجه قدرت مخاط چسبی این دیسک‌ها در مقایسه با دیسک‌هایی که قبل از تماس با مخاط هیدراته نشده‌اند (زنجیره‌های پلیمری آنها هنوز کاملاً هیدراته نشده است)، به مراتب کمتر خواهد بود.

در رابطه با دیسک‌های حاوی C۹۳۴، به نظر می‌رسد که زنجیره‌های پلیمری آنها حتی پس از ۲ دقیقه تماس با بافر فسفات با  $pH=6/0$  به طور کامل هیدراته نشده باشند و لذا بتوانند بعد از تماس با سطح مخاط به میزان بیشتر هیدراته شوند و بنابراین قدرت مخاط چسبی بالاتری در مقایسه با حالتی که دیسک از قبل هیدراته نشده است، داشته باشند. هرچند، بعد از هیدراته نمودن دیسک به مدت ۵ دقیقه، قدرت مخاط چسبی کاهش یافت و بنابراین می‌توان بیان نمود که بعد از گذشت ۵ دقیقه زنجیره‌های پلیمری موجود در سطح دیسک کاملاً هیدراته شده‌اند و حتی به مرحله جذب بیش از حد آب رسیده‌اند و لذا قدرت مخاط چسبی کاهش خواهد یافت. البته، کاهش مشاهده شده در قدرت چسبندگی دیسک‌های حاوی C۹۳۴ به مراتب کمتر از سایر دیسک‌های بررسی شده می‌باشد که این مسأله می‌تواند از مزایای بسیار مهم این پلیمر محسوب شود.

بنابراین، بر اساس نتایج به دست آمده از این مطالعه باید به این نکته مهم اشاره نمود که یک سیستم دارورسانی مخاط چسب باید بعد از تماس با سطح مخاط اقدام به جذب آب (هیدراسیون) از مخاط و محیط اطراف نماید تا پیوند مخاط چسب مستحکم تشکیل شود. در غیر این صورت قدرت چسبندگی و در نتیجه مدت زمان باقی ماندن آن بر سطح مخاط می‌تواند شدیداً به علت

شبه ساختمانی موکوس و در نتیجه قدرت چسبندگی پلیمر به آن تأثیر بگذارد. باید به این نکته نیز توجه نمود که PEO به علت داشتن یک بار الکتریکی خنثی، کمترین میزان تغییرات در قدرت مخاط چسبی را در اثر تغییر  $pH$  از خود نشان داد.

در انتها باید در نظر داشت که به علت اینکه  $pH$  موجود در روده کوچک، دهان و بینی حدود  $7/0$  می‌باشد، پلیمرهای مذکور احتمالاً می‌توانند بیشترین قدرت مخاط چسبی خود را در این نواحی نشان دهند.

دو پلیمر Kar و Carr که هر دو از جمله ترکیبات پلی ساکاریدی آنیونی می‌باشند، دارای گروه‌های هیدروکسیل و کربوکسیل در ساختمان خود هستند (۲۳). این دو پلیمر بیشترین قدرت مخاط چسبی را در  $pH=6/0$  از خود نشان دادند. بنابراین، با توجه به این که  $pH$  مشاهده شده در بخش‌های بالایی روده کوچک در این حدود ( $pH=6/0$ ) می‌باشد، می‌توان پیش‌بینی نمود که این دو پلیمر بیشترین قدرت مخاط چسبی را در آن ناحیه از خود نشان دهند.

در نهایت دیسک‌های حاوی CMC، که یک مشتق سلولزی آنیونی می‌باشد، بیشترین قدرت مخاط چسبی را در  $pH=5/0$  از خود نشان دادند. بنابراین، با توجه به اینکه  $pH$  مشاهده شده در نواحی دئودنوم و واژن در این محدوده می‌باشد، این پلیمر می‌تواند حداکثر قدرت مخاط چسبی خود را در این نواحی نشان دهد.

بنابراین، بر اساس مطالعه انجام شده باید به این نکته توجه داشت که انتخاب یک پلیمر مخاط چسب باید بر اساس  $pH$  موضع مربوطه انجام گردد و این مسأله می‌تواند بر قدرت مخاط چسبی سیستم دارورسانی تأثیر مهمی بگذارد و نباید نادیده گرفته شود.

همان طور که در بخش اول این مطالعه به آن اشاره گردید، یک سیستم مخاط چسب جامد باید بعد از تماس با مخاط موکوسی هیدراته شود تا بتواند یک پیوند مخاط چسب قوی و مستحکم ایجاد نماید. بنابراین حضور یک محیط مائی در اطراف یک سیستم دارورسانی مخاط چسب جامد از این لحاظ بسیار مهم می‌باشد. هر چند، در صورتی که سیستم دارورسانی مخاط چسب نتواند سریعاً بعد از مصرف به سطح مخاط چسب (برای مثال در صورت مصرف سیستم به صورت خوراکی در معده یا روده)، ممکن است که قدرت چسبندگی به علت حضور محیط مائی اطراف آن تحت تأثیر قرار گیرد. جهت بررسی این مسأله، اقدام به هیدراته نمودن دیسک‌های پلیمری به مدت ۲ و ۵ دقیقه قبل از قرار دادن آنها در تماس با مخاط شد. به غیر از C۹۳۴ که



جذب بیش از حد آب از محیط اطراف (قبل از چسبیدن به سطح مخاط) کاهش یابد و این امر منجر به کارایی نامطلوب سیستم خواهد شد. هرچند در این میان پلیمر C934 از سایر پلیمرها مناسب‌تر و مطلوب‌تر به نظر می‌رسد.

در مطالعات قبلی (۳، ۱۸، ۱۹) اهمیت ایجاد پیوندهای هیدروژنی مابین زنجیره‌های پلیمر مخاط چسب و ساختمان شبکه‌ای موکوس، به عنوان عاملی مهم در فرآیند مخاط چسبی مطرح شده است. هرچند در این مطالعات تأثیر تخریب پیوندهای هیدروژنی بر قدرت مخاط چسبی سیستم دارورسانی بررسی نشده است. جهت انجام این آزمون از اوره که در منابع از آن به عنوان یک عامل مخرب و بازدارنده تشکیل پیوندهای هیدروژنی یاد شده است (۸، ۹)، استفاده شد. نتایج حاصله حاکی از کاهش قابل توجهی در قدرت چسبندگی پلیمر آنیونی C934 و پلیمر خنثی PEO در حضور اوره می‌باشد. کاهش مشاهده شده در قدرت چسبندگی این دو پلیمر وابسته به غلظت اوره می‌باشد و با افزایش میزان اوره، شدیداً کاهش می‌یابد. بنابراین، بر اساس مطالعه انجام شده به نظر می‌رسد که اوره احتمالاً از تشکیل پیوندهای هیدروژنی مابین زنجیره‌های پلیمر مخاط چسب و موکوس تا حد زیادی جلوگیری می‌کند و لذا مانع از ایجاد یک پیوند مخاط چسب قوی و مستحکم می‌شود. البته، اثبات دقیق این مسأله

مستلزم انجام مطالعات بیشتر می‌باشد. بر اساس مطالعات انجام شده، به نظر می‌رسد که پلیمر صناعی PEO و همچنین پلیمر پلی ساکاریدی Carr که تاکنون مطالعات بسیار اندکی بر روی آنها انجام شده است، بتوانند به عنوان مواد مخاط چسب قوی و مناسب مطرح شوند و شاید بتوان از آنها در تهیه سیستم‌های دارورسانی مخاط چسب استفاده نمود. در ضمن بر اساس نتایج به دست آمده از این تحقیق، به نظر می‌رسد که میزان هیدراسیون یک سیستم دارورسانی مخاط چسب می‌تواند تأثیر عمده‌ای بر قدرت مخاط چسبی آن بگذارد. به صورت ایده آل یک سیستم مخاط چسب باید قادر باشد که پس از تماس با مخاط موکوسی، آن را دهیدراته کرده و سپس یک پیوند مخاط چسب قوی ایجاد نماید. از طرف دیگر تشکیل پیوندهای هیدروژنی مابین زنجیره‌های پلیمری و شبکه ساختمانی موکوس نیز در ایجاد یک پیوند مخاط چسب قوی و مستحکم نقش مهمی را ایفا می‌کند. در نهایت باید به این نکته توجه داشت که pH محیطی که قرار است سیستم دارورسانی مخاط چسب در آن ناحیه بچسبد، می‌تواند تأثیر زیادی بر کارایی و قدرت مخاط چسبی سیستم بگذارد و بنابراین باید پلیمری را انتخاب نمود که در pH محیط مربوطه حداکثر قدرت چسبندگی را از خود نشان دهد.

## Summary

### *In Vitro* Study of Some Factors Affecting the Adhesive Strength of Mucoadhesive Polymers

S.A. Mortazavi, PhD.<sup>1</sup>

1. Associate Professor of Pharmaceutics, Department of Industrial Pharmacy, School of Pharmacy, Shaheed Beheshti University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran

*Mucoadhesive drug delivery systems are among novel drug delivery systems that due to their ability to adhere and remain on the mucosal surfaces and a slow and sustained release of their drug content have attracted special attention in recent years. The aim of this study was to evaluate the effect of four different important factors on the mucoadhesive strength of a few mucoadhesive polymers. Among the polymers investigated, apart from the known polymers such as Carbopol 934P (C934) and sodium carboxymethyl cellulose (CMC) which have high mucoadhesive strengths, the effectiveness of a few other polymers were also studied. These were polyethylene oxide (PEO), Karaya (Kar), Carrageenan (Carr) and sodium alginate (Na alg). For this purpose polymer containing discs were prepared and their mucoadhesive strength in rat intestine (as a mucosa model) was assessed by using a home made apparatus. The mucoadhesive strength of prepared polymeric discs in the presence and absence of phosphate buffer pH=6.0 at 37 °C and at various pH values from 2.2-8.0, and under the condition of hydrating the polymeric discs for 2 and 5 minutes in phosphate buffer pH=6.0 before placing them in contact with*

*mucosa*, was evaluated. Also, the effect of urea (as the hydrogen bond breaker) on the mucoadhesive strength of discs containing C934 and PEO was evaluated. The results showed that among the polymers studied, PEO and Carr like C934 and CMC have desirable mucoadhesive strengths, and could be used for the preparation of mucoadhesive drug delivery systems. It was also found that the extent of hydration of polymer containing discs has an important effect on their mucoadhesive strength. In case of insufficient polymer hydration or its overhydration, the mucoadhesive strength will be greatly reduced. Also, the environmental pH has an important effect on the mucoadhesive strength of discs and therefore in the design of a mucoadhesive system, a polymer with a high mucoadhesive strength in the specific area of the body should be used. Furthermore it was found that the formation of hydrogen bonds between the mucoadhesive polymer and *mucosa*, plays a very important role in the formation of a strong mucoadhesive bond.

*Journal of Kerman University of Medical Sciences*, 2001; 8(1): 50-60

**Key Words:** Mucoadhesive strength, Carbopol 934P, Sodium carboxymethyl cellulose, Polyethylene oxide, Carrageenan, Sodium alginate, Karaya

### References

1. Ahuja A, Khar RK and Ali J. Mucoadhesive drug delivery systems. *Drug Dev Ind Pharm* 1997; 23(5): 489-515.
2. Chen JL and Cyr GN. Compositions producing adhesion through hydration. In: Manly RS (Ed). *Adhesion in Biological Systems*. New York, Academic Press, 1970; pp163-181.
3. Ch'ng HS, Park H, Kelly P and Robinson JR. Bioadhesive polymers as platforms for oral controlled drug delivery II: Synthesis and evaluation of some swelling water-insoluble bioadhesive polymers. *J Pharm Sci* 1985; 74(4): 399-405.
4. Clark AH and Ross-Murphy SB. Structural and mechanical properties of biopolymer gels. *Adv Polym Sci* 1987; 83: 57-192.
5. Duchene D, Touchard F and Peppas NA. Pharmaceutical and medical aspects of bioadhesive systems for drug administration. *Drug Dev Ind Pharm* 1988; 14(2&3): 283-318.
6. Dyvik K and Graffner C. Investigation of the applicability of a tensile testing machine for measuring mucoadhesive strength. *Acta Pharm Nord* 1992; 4(2): 79-84.
7. Gu JM, Robinson JR and Leung SHS. Binding of acrylic polymers to mucin/epithelial surface: Structure-property relationship. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst* 1988; 59(1): 21-67.
8. Hamaguchi K and Geiduschek EP. The effect of electrolytes on the stability of the deoxyribonucleate helix. *J Am Chem Soc* 1962; 84: 1329-1338.
9. Hatefi Y and Hanstein WG. Solubilization of particulate proteins and nonelectrolytes by chaotropic agents. *Proc Natl Acad Sci USA* 1969; 62(4): 1129-1136.
10. Jimenez-Castellanos MR, Zia H and Rhodes CT. Assessment of an *in vitro* method for measuring the bioadhesiveness of tablets. *Int J Pharm* 1993; 89(3): 223-228.

11. Kerr LJ, Kellaway IW, Rowlands C and Parr GD. The influence of poly (acrylic) acids on the rheology of glycoprotein gels. *Proc Int Symp Contr Rel Bioact Mater* 1990; 17: 122-123.
12. Leung SHS and Robinson JR. The contribution of anionic polymer structural features to mucoadhesion. *J Control Rel* 1988; 5: 223-231.
13. Moes AJ. Gastroretentive dosage forms. *Crit Rev Ther Carrier Systems* 1993; 10(2): 143-195.
14. Mortazavi SA, Carpenter BG and Smart JD. An investigation of the rheological behaviour of the mucoadhesive/mucosal interface. *Int J Pharm* 1992; 83(1-3): 221-225.
15. Mortazavi SA, Carpenter BG and Smart JD. A comparative study on the role played by mucus glycoproteins in the rheological behaviour of the mucoadhesive/mucosal interface. *Int J Pharm* 1993; 94(1-3): 195-201.
16. Mortazavi SA and Smart JD. Factors influencing gel-strengthening at the mucoadhesive-mucus interface. *J Pharm Pharmacol* 1994; 46(2): 86-90.
17. Mortazavi SA and Smart JD. An investigation of some factors influencing the *in vitro* assessment of mucoadhesion. *Int J Pharm* 1995; 116: 223-230.
18. Park H and Robinson JR. Mechanisms of mucoadhesion of poly (acrylic acid) hydrogels. *Pharm Res* 1987; 4(6): 457-464.
19. Peppas NA and Buri PA. Surface interfacial and molecular aspects of polymer bioadhesion on soft tissues. *J Control Rel* 1985; 2: 257-275.
20. Smart JD, Kellaway IW and Worthington HE. An *in vitro* investigation of mucosa-adhesive materials for use in controlled drug delivery. *J Pharm Pharmacol* 1984; 36(5): 295-299.
21. Smart JD. An *in vitro* assessment of some mucosa-adhesive dosage forms. *Int J Pharm* 1991; 73(1): 69-74.
22. Smart JD. Drug delivery using buccal-adhesive systems. *Adv Drug Deliv Rev* 1993; 11(3): 253-270.
23. Stevens MP. Polymer Chemistry-An Introduction. New York, Oxford University Press, 1990; pp146-185.