



Research Paper

Preparation and evaluation of controlled-release mucoadhesive nanoparticles based on carbomer and hydroxypropyl methylcellulose for the treatment of epilepsy

Fariba Hashemi-Afzal¹, Fariba Ganji^{1,*}, Ebrahim Vasheghani-Farahani¹

¹ Biomedical Engineering Department, Faculty of Chemical Engineering, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

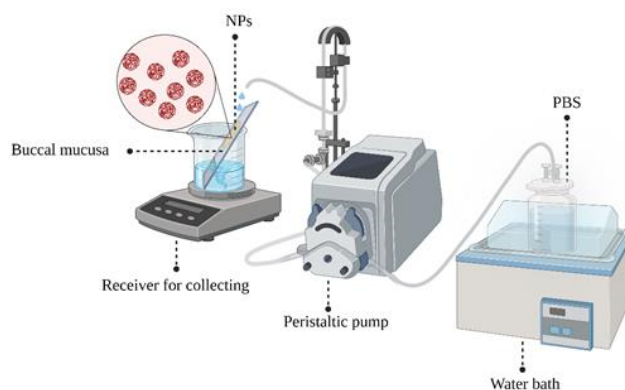
ARTICLE INFO

Received 2025-08-07
Accepted 2025-12-07
Available online 2026-06-06
ISSN: 2588-5316
Online ISSN: 2588-5324

Keywords:

Buccal
Drug delivery
Mucoadhesive nanoparticle
HPMC
Carbomer

GRAPHICAL ABSTRACT



ABSTRACT

Research subject: This study focuses on the development and evaluation of mucoadhesive nanoparticles containing midazolam, formulated using a polymer blend of carbomer 934P (Cb) and hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) for pediatric epilepsy treatment. Epilepsy, being one of the most prevalent neurological disorders in children, necessitates advanced drug delivery systems to enhance therapeutic outcomes.

Research approach: This study employed the emulsion-solvent evaporation technique to develop mucoadhesive nanoparticles using a polymer blend of Cb and HPMC. The formulation parameters were systematically optimized to achieve the desired physicochemical properties. Comprehensive characterization was performed, including evaluation of particle morphology, size distribution, zeta potential, drug encapsulation efficiency, and loading capacity. Functional properties such as swelling behavior in physiological conditions, mucoadhesive strength, and *in vitro* drug release profile were thoroughly investigated to ensure optimal performance for pediatric epilepsy treatment.

Main results: Results of the evaluation of mucoadhesive nanoparticles containing midazolam demonstrated that the optimized formulation with a 2% Cb and 1% HPMC ratio exhibited an ideal nanostructure with an average size of 661 nm and uniform size distribution (PDI of 0.25). The drug delivery system showed excellent drug loading capacity with 60% encapsulation efficiency and 27% drug loading. Functional characterization revealed remarkable swelling capacity (up to 750%) under physiological conditions and significant mucoadhesive strength (8560 N/m²). Drug release studies demonstrated a controlled and sustained release pattern over 4 hours. Scanning electron microscopy (SEM) images confirmed the spherical and uniform morphology of the nanoparticles. These unique characteristics make the developed drug delivery system an outstanding candidate for pediatric epilepsy treatment, as it both prolongs drug effect through enhanced mucosal contact time and improves treatment compliance by reducing dosing frequency via controlled release properties.

* Corresponding author: fganji@modares.ac.ir



مقاله تحقیقاتی

تهیه و ارزیابی نانوذرات مخاط‌چسب بر پایه کربومر و هیدروکسی پروپیل متیل سلول با رهایش کنترل شده برای درمان صرع

فریبا هاشمی افضل^۱، فریبا گنجی^{۱*}، ابراهیم واشقانی فراهانی^۱

^۱ گروه مهندسی زیست پزشکی، دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

چکیده

موضوع تحقیق: این مطالعه به تهیه و ارزیابی نانوذرات مخاط‌چسب حاوی میدازولام بر پایه ترکیب پلیمری کربومر P9۳۴ (Cb) و هیدروکسی پروپیل متیل سلولز (HPMC) برای درمان صرع کودکان اختصاص دارد. صرع یکی از شایع‌ترین اختلالات عصبی در کودکان است که نیازمند سامانه‌های دارورسانی نوین برای بهبود اثربخشی درمانی است.

روش تحقیق: نانوذرات بر پایه ترکیب پلیمری Cb و HPMC با روش امولسیون-تبخیر حلال سنتز شدند. اجزای فرمول‌بندی به طور منظم برای دستیابی به خواص فیزیکوشیمیایی مطلوب بهینه شدند. مشخصه‌یابی جامع، از جمله ارزیابی مورفولوژی ذرات، توزیع اندازه، پتانسیل زتا، بازده محبوس‌سازی و بارگذاری دارو انجام شد. خواص عملکردی مانند رفتار تورمی در شرایط فیزیولوژیکی، قدرت مخاط‌چسبی و پروفیل رهایش دارو در شرایط آزمایشگاهی به طور کامل بررسی شدند تا عملکرد بهینه برای درمان صرع کودکان تضمین شود.

نتایج اصلی: نتایج ارزیابی نانوذرات مخاط‌چسب حاوی میدازولام نشان داد که فرمول‌بندی بهینه‌شده با نسبت ۲٪ Cb و ۱٪ HPMC، دارای ساختار نانومتری مناسب با میانگین اندازه ۶۶۱ نانومتر و توزیع اندازه یکنواخت (شاخص پراکندگی ۰/۲۵) بود. از نظر کارایی بارگذاری دارو، سامانه توانسته با بازده محبوس‌سازی ۶۰٪ و درصد بارگذاری ۲۷٪ مقدار قابل توجهی از دارو را در خود جای دهد. ویژگی‌های عملکردی شامل توانایی تورم تا ۷۵٪ در شرایط فیزیولوژیکی و قدرت چسبندگی مخاطی قابل توجه 8560 N/m^2 از دیگر مزایای این فرمول‌بندی بود. مطالعات رهایش دارو الگوی کنترل‌شده و پایدار را در مدت ۴ ساعت نشان داد. تصاویر میکروسکوپ الکترونی (SEM) ساختار کروی و یکدست نانوذرات را تأیید کرد. این ویژگی‌های منحصربه‌فرد، این سامانه دارورسانی را به گزینه‌ای ممتاز برای درمان صرع کودکان تبدیل می‌کند، چرا که از یک سو با افزایش زمان تماس با مخاط، مدت اثر دارو را افزایش می‌دهد و از سوی دیگر با رهایش کنترل‌شده، امکان کاهش دفعات مصرف و بهبود پذیرش درمانی را فراهم می‌آورد.

اطلاعات مقاله

دریافت: ۱۴۰۴/۰۵/۱۶

پذیرش: ۱۴۰۴/۰۹/۱۶

دسترس آنلاین: ۱۴۰۵/۰۳/۱۶

ISSN: 2588-5316

Online ISSN: 2588-5324

کلیدواژه‌ها

گونه

دارورسانی

نانوذرات مخاط‌چسب

هیدروکسی پروپیل متیل سلولز

کربومر

* نویسنده مسئول: fganji@modares.ac.ir

۱ مقدمه

صرع، شایع‌ترین بیماری فوریتی عصبی تهدیدکننده زندگی کودکان در کشورهای توسعه‌یافته است و تشنج مهم‌ترین علامت بالینی آن است. راه جلوگیری از آسیب عصبی در تشنج، تشخیص و درمان سریع آن است. میدازولام به‌عنوان دارویی آرام‌بخش با اثر کوتاه‌مدت، در درمان حملات تشنجی در کودکان توصیه می‌شود. اگر چه تزریق درون وریدی داروهای ضدصرع، کارآمدترین روش برای کنترل تشنج در شرایط اضطراری است؛ اما برای تزریق نیاز به متخصصان مراقبت‌های بهداشتی وجود دارد و همچنین دسترسی وریدی در چنین شرایط اضطراری به‌ویژه در کودکان دشوار است [۱]. در نتیجه، استفاده از دارو با روش تجویز آسان مانند روش خوراکی برای درمان تشنج در بیماران بسیار مطلوب است. از طرف دیگر، در صورت مصرف خوراکی، مقدار زیادی از دارو طی سوخت‌وساز عبور اولیه کبدی از بین می‌رود. اگر چه روش خوراکی معمولاً به‌دلیل هزینه کمتر، بیمارپسندی و غیرتهاجمی بودن به‌عنوان روش غالب ترجیح داده می‌شود، اما هنگامی که روش خوراکی مناسب نباشد، روش ایمن دیگری باید در نظر گرفته شود [۲]. روش مناسب، استفاده از دارورسانی گونه‌ای (Buccal Drug Delivery) است. تراوایی بالای مخاط دهان و جریان خونی بالا در این ناحیه، سبب زیست‌فراهمی بالای دارو در این مسیر می‌شود. از مزایای این مسیر دارورسانی می‌توان موارد زیر را نام برد:

عروق خونی بسیار زیاد لایه‌ی مخاط در حفره‌ی دهانی سبب جذب سریع دارو می‌شود و در نتیجه دارورسانی به سامانه‌ی گردش خون را امکان‌پذیر می‌کند؛ برای مصرف احتیاج به آب و جویدن ندارد؛ دارو بدون عبور اولیه کبدی وارد سامانه‌ی گردش خون می‌شود؛ به مقدار مصرفی پایین‌تری احتیاج است؛ دارای عوارض جانبی کمتری نسبت به شکل‌های دارویی خوراکی است؛ دارورسانی هم به صورت موضعی و هم سامانه‌ای امکان‌پذیر است [۳].

باتوجه به وزن مولکولی پایین و چربی‌دوستی بالای داروی میدازولام، این دارو می‌تواند در سراسر غشای مخاط گونه به‌آسانی جذب شود [۴]. بنابراین، این دارو گزینه‌ای مناسب برای انتخاب داروی مدل از مسیر دارورسانی گونه-ای است. نانوذرات پلیمری مخاط‌چسب می‌توانند گزینه‌ی مناسبی برای دست‌یابی به دارورسانی آهسته از طریق مخاط گونه باشند. نسبت سطح به حجم بالای نانوذرات، باعث ایجاد پیوندهای پایدارتر با مخاط در مقایسه با ساختارهای بزرگ‌تر می‌شود؛ از طرفی اندازه کوچک‌تر این سامانه‌ها در مقایسه با قرص‌ها و فیلم‌های مخاط‌چسب، باعث کاهش تحریک موضعی در محل چسبندگی و احساس ناراضی‌تی از وجود جسم خارجی در حفره‌ی دهان شده است. از این‌رو، استفاده از این سامانه‌ها برای دارورسانی آهسته نسبت به سایر سامانه‌ها ترجیح داده می‌شود. خصوصیات مخاط‌چسبی تحت‌تأثیر ویژگی‌های پلیمر و همچنین شرایط محیطی که پلیمر در آن ساکن است، قرار می‌گیرد [۵ و ۶]. از ویژگی‌های مهم پلیمرها، وزن مولکولی، انعطاف‌پذیری، توانایی تشکیل پیوند هیدروژنی، درجه شبکه‌ای‌شدن، بار، غلظت و تورم است. باتوجه به بررسی‌ها و مطالعات انجام‌شده توسط سایر محققان، خواص مخاط‌چسبی پلی‌اکریلیک‌اسیدها از جمله کربومرها (Cb) نسبت به بسیاری از پلیمرهای مخاط‌چسب دیگر بیشتر است، اما ممکن

است به‌تنهایی باعث تحریک مخاط شود. به همین دلیل ترکیب کربومر با پلیمری آبدوست مثل هیدروکسی‌پروپیل‌متیل سلولز (HPMC) که خواص تورم و چسبندگی بالایی دارد، می‌تواند خواص مخاط‌چسبی و زیست-سازگاری خوبی داشته باشد [۷].

در این مطالعه نانوذرات با نسبت بهینه دو پلیمر Cb و HPMC و با روش امولسیون-تبخیر حلال تهیه شدند. سپس ویژگی‌های نانوذرات از جمله اندازه، مورفولوژی، تورم و ... مورد ارزیابی قرار گرفت. فرمول‌بندی بهینه توسعه‌یافته در این پژوهش می‌تواند گامی مؤثر در بهبود درمان صرع کودکان باشد، چرا که هم نیاز به تزریق وریدی را مرتفع می‌سازد و هم با کنترل رهايش دارو، اثربخشی درمان را افزایش می‌دهد.

۲ بخش تجربی

۲-۱ مواد

مواد مورد استفاده در این مطالعه شامل پلیمرهای کربومر P ۹۳۴ (۳۰۰۰ کیلودالتون) و هیدروکسی‌پروپیل‌متیل سلولز (HPMC) با مشخصات خاص (۳۰-۲۸٪ متوکسیل، ۷-۱۲٪ هیدروکسی‌پروپیل، گرانیوی ۴۰-۶۰ mPa.s برای محلول آبی ۲٪، ۹۰ کیلودالتون) از شرکت سیگما-آلدريج (آمریکا) تهیه شدند. میدازولام به‌عنوان داروی مدل از شرکت داروسازی فارابی (ایران) دریافت شد و سایر مواد شیمیایی با درجه خلوص تحلیلی از شرکت مرک (آلمان) خریداری شدند. تمام مواد مطابق با استانداردهای دارویی و با رعایت دقیق شرایط نگهداری پیش از استفاده آماده‌سازی شدند.

۲-۲ تهیه نانوذرات

به‌دلیل ماهیت آب‌گریز میدازولام، نانوذرات پلیمری با روش امولسیون آب در روغن-تبخیر حلال تهیه شدند. ابتدا ۵۰ میلی‌گرم از مخلوط پلیمرهای HPMC و Cb در ۵ میلی‌لیتر اتانول حل و به مدت ۱ ساعت روی همزن مغناطیسی (۸۰۰ rpm) هم زده شد. سپس دارو به محلول پلیمری افزوده و هم‌زدن ۳۰ دقیقه ادامه یافت. فاز آبی حاصل با سرعت ۱۰ میلی‌لیتر بر ساعت به ۱۰۰ میلی‌لیتر روغن پارافین حاوی اسپن ۸۰ تزریق و با همگن‌ساز (۱۰۰۰۰ rpm، حمام یخ) به مدت ۳ دقیقه همگن شد تا امولسیون آب در روغن تشکیل شود. این امولسیون به‌مدت ۲ ساعت روی همزن مغناطیسی (۱۲۰۰ rpm) قرار گرفت تا حلال تبخیر و نانوذرات تشکیل شوند. سپس نانوذرات با سانتیفریوژ (۴۸۰۰ g، ۱۵ دقیقه) جداسازی، سه بار با آن-هگزان شستشو و پس از ۲۴ ساعت خشک‌شدن در دمای اتاق، برای آزمون‌ها آماده شدند. نانوذرات بدون دارو نیز با همین روش سنتز شدند.

۲-۳ ارزیابی نانوذرات مخاط‌چسب

۲-۳-۱ تعیین بازده تولید، بازده محبوس‌سازی و بارگذاری دارو

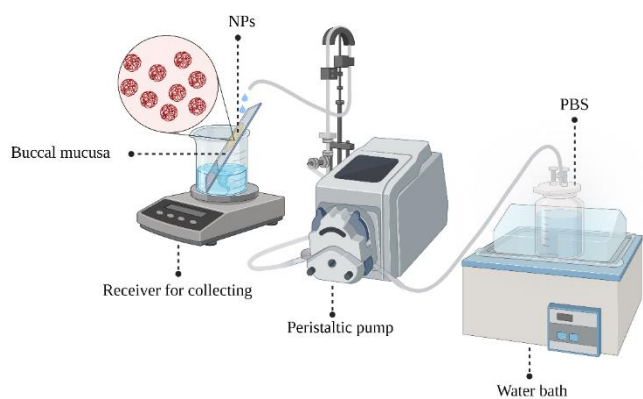
برای تعیین بازده تولید فرایند، وزن تمام مواد اولیه به‌کاررفته در تهیه‌ی نانوذرات و وزن محصول (نانوذرات) نهایی اندازه‌گیری شد و با استفاده از رابطه (۱) بازده تولید فرایند محاسبه شد. برای تعیین بازده محبوس‌سازی (EE) (Entrapment Efficiency) و بارگذاری (LC) (Loading Capacity) دارو در نانوذرات، مقدار ۲ mg از نانوذرات حاوی دارو را در بافر فسفات ریخته، به اندازه کافی زمان داده شد تا تمام نانوذرات حل شوند. در مورد

از گونه‌ی مخاط موش به ابعاد $6 \times 10 \text{ mm}^2$ را بریده و با استفاده از چسب سیانواکریلات به فک ثابت دستگاه کشش متصل شد. بعد از مرطوب کردن مخاط با محلول بافر فسفات ۶/۸ pH، مقداری از نانوذرات به فک متحرک چسبانده شد، طوری که سطح مخاط پوشش داده شود و به مدت زمان ۲ دقیقه در تماس با مخاط قرار گرفت. سپس فک متحرک با سرعت 1 min^{-1} به طرف بالا حرکت داده شد تا لحظه‌ای که نانوذرات از مخاط جدا شوند. در نهایت قدرت چسبندگی، از رابطه (۳-۷) محاسبه شد [۱۰].

$$(5) \quad \text{قدرت چسبندگی (N/mm}^2\text{)} = \frac{\text{نیروی چسبندگی}}{\text{مساحت سطح}}$$

۲-۴-۳ اندازه‌گیری داروی شسته‌شده به وسیله‌ی بزاق

برای بررسی چسبندگی نانوذرات به مخاط، ابتدا نمونه مخاط روی اسلاید شیشه‌ای ثابت شد و نانوذرات روی سطح مرطوب آن پخش شدند. سپس، مخاط تحت جریان مداوم بزاق مصنوعی (حاوی ترکیبات نمکی مشابه بزاق طبیعی با pH ۶/۸ و دمای ۳۷ درجه سانتیگراد) با سرعت ۰/۵ میلی لیتر بر دقیقه قرار گرفت تا داروی شسته‌شده جمع‌آوری شود. برای اطمینان از آزادسازی کامل داروی احتمالی موجود در نانوذرات جدا شده، محلول جمع‌آوری شده روی همزن مغناطیسی قرار داده شد (شکل ۱). در نهایت، غلظت داروی می‌دازولام شسته‌شده در بازه‌های زمانی مشخص تا رسیدن به صفر، با دستگاه طیف‌سنج نوری اندازه‌گیری شد [۸].



شکل ۱ طرح‌واره روش مورد استفاده برای اندازه‌گیری غلظت داروی آزادشده از مخاط

Figure 1 The schematic diagram of the method used to measure the concentration of drug released from the mucosa

۲-۵ بررسی درصد رهایش دارو

برای تعیین درصد رهایش دارو از نانوذرات مخاط‌چسب، از آزمون حل شدن نانوذرات استفاده می‌شود [۱۱]. برای انجام این آزمون ۲ mg نانوذرات حاوی دارو درون ۵۰ mL محیط رهایش قرار گرفت و در مورد نانوذرات بدون دارو هم همین عمل تکرار شد. سپس هر دو محلول در دور 100 rpm در دمای 37°C قرار گرفتند. در فواصل زمانی معین لوله‌ها از بن ماری خارج شدند و محلول بالایی با سانتریفیوژ در دور ۴۵۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه جدا شد. سپس جذب روماند توسط دستگاه طیف‌سنج نوری خوانده شد و توسط منحنی استاندارد مقدار غلظت محاسبه شد. برای اطمینان از شرایط سینک محیط رهایش، هر بار مقدار بافر تازه جایگزین قبلی شد.

نانوذرات بدون دارو نیز همین کار انجام شد تا محلول به دست آمده به عنوان شاهد استفاده شود. با اندازه‌گیری میزان جذب، غلظت دارو از روی نمودار استاندارد به دست آمد و باتوجه به حجم محلول، مقدار داروی محبوس شده در نانوذرات محاسبه شد. بازده محبوس‌سازی و میزان بارگذاری دارو از روابط (۲) و (۳) به دست آمد.

$$(1) \quad 100 \times \frac{\text{جرم نانوذرات حاوی دارو}}{\text{مقدار کل مواد اولیه}} = \text{بازده تولید } (\%)$$

$$(2) \quad 100 \times \frac{\text{مقدار داروی بارگذاری شده در نانوذرات}}{\text{مقدار کل دارو اولیه}} = \text{بازده محبوس‌سازی دارو } (\%)$$

$$(3) \quad 100 \times \frac{\text{مقدار داروی بارگذاری شده در نانوذرات}}{\text{جرم نانوذرات حاوی دارو}} = \text{بازده بارگذاری دارو } (\%)$$

۲-۳-۲ تعیین اندازه و شاخص پراکندگی (PDI)

میانگین اندازه ذرات و شاخص پراکندگی (Polydispersity Index) نانوذرات تهیه‌شده با استفاده از دستگاه DLS بررسی شد. اندازه ذرات در زاویه پراکندگی 90° و در دمای 25°C اندازه‌گیری شد. نمونه‌ها با حلال آلی رقیق شدند تا شدت پراکندگی مناسب حاصل شود. باریک بودن دامنه اندازه ذرات با استفاده از شاخص پراکندگی محاسبه شد.

۲-۳-۳ بررسی pH سطحی

pH سطحی نانوذرات، پس از نهداری آن‌ها در محلول بافر فسفات ۶/۸ pH و قرار دادن الکتروود در نزدیکی سطح نانوذرات و بعد از به تعادل رسیدن به مدت ۱ دقیقه تعیین شد [۸]. pH سطحی در فواصل زمانی معین اندازه‌گیری شد.

۲-۳-۴ تعیین درصد تورم

به منظور اندازه‌گیری درصد تورم نانوذرات مخاط‌چسب، مقدار مشخصی از نانوذرات در ۵ ml بافر فسفات با pH ۶/۸ در دمای 37°C غوطه‌ور شدند. سپس در فواصل زمانی معین، بافر اضافی از سطح نانوذرات با استفاده از کاغذ صافی خارج شد و اندازه‌گیری تورم تا تخریب شدن نانوذرات ادامه داشت [۹]. درصد تورم به کمک رابطه (۳-۶) محاسبه شد که در این رابطه W_1 و W_2 به ترتیب وزن اولیه و متورم نانوذرات است.

$$(4) \quad \text{درصد تورم} = \frac{(W_2 - W_1)}{W_1} \times 100$$

۲-۴-۲ ارزیابی‌های مخاط‌چسبی نانوذرات

۲-۴-۲-۱ آماده‌سازی مخاط

این مطالعه پس از اخذ کد اخلاق IR.MODARES.REC.1397.186 از دانشگاه تربیت مدرس انجام شد. خرگوش‌های سفید نیوزلندی در شرایط استاندارد (دمای $23 \pm 2^\circ \text{C}$ ، چرخه نور ۱۲ ساعته، دسترسی آزاد به آب و غذا) نگهداری شدند و پس از یک هفته سازگاری با محیط، مخاط گونه آن‌ها پس از جداسازی و حذف بافت‌های اضافی با چاقو و قیچی، با بافر فسفات (pH 7.4) شستشو و آماده‌سازی شد.

۲-۴-۲-۲ اندازه‌گیری قدرت چسبندگی نانوذرات به مخاط

برای اندازه‌گیری قدرت چسبندگی بین نانوذرات و سطح مخاط، از دستگاه کشش ساخت شرکت سنتام (Santam)، ایران، استفاده شد. در ابتدا قطعه‌ای

محاسبه شد تا ترکیب‌بندی بهینه انتخاب شده، برای ادامه‌ی پژوهش استفاده شود.

جدول ۱ ترکیب‌بندی نانوذرات مخاط‌چسب

Table 1 Composition of mucoadhesive nanoparticles

Samples	Cb(mg)	HPMC (mg)	Drug (mg)
H ₂ C ₁	16.66	33.33	25
H ₁ C ₁	25	25	25
H ₁ C ₂	33.33	16.66	25

۱-۱-۳ بازده تولید نانوذرات، بازده بارگذاری و محبوس‌سازی دارو

همان‌گونه که در جدول ۲ دیده می‌شود، بازده تولید نانوذرات H₁C₁، H₂C₁ و H₁C₂ به ترتیب در حدود ۸۵، ۸۱ و ۷۴ درصد بود. با افزایش نسبت Cb به HPMC در ترکیب نانوذرات، بازده تولید کاهش یافت. به‌گونه‌ای که H₂C₁ با کمترین میزان Cb دارای بازده ۸۵/۶۶٪ و H₁C₂ با بیشترین مقدار Cb دارای بازده تولید ۷۴٪ بود. این امر احتمالاً به دلیل گرانی‌تری بالای Cb نسبت به HPMC است که باعث کاهش توانایی تزریق شدن فاز آبی شده، در نهایت منجر به مسدود شدن سرسرنج تزریق می‌شود. یکی دیگر از دلایل آن ممکن است، جمع شدن و چسبیدن پلیمر به مگنت مغناطیسی درون محلول و دیواره بشر در هنگام تشکیل ذرات باشد، همان‌گونه که در پژوهش‌های پیشین هم دیده شده است [۱۳].

جدول ۲ بازده تولید، بازده بارگذاری و محبوس‌سازی دارو در نانوذرات

مخاط‌چسب

Table 2 Production yield, EE, and LC in mucoadhesive nanoparticles

Samples	Production yield (%)	EE (%)	LC (%)
H ₂ C ₁	85.66±3.52	41.00±0.04	16.00±1.60
H ₁ C ₁	81.33±3.48	47.00±0.02	19.00±0.94
H ₁ C ₂	74.00±7.20	60.00±0.03	55.10±2.7

افزایش نسبت Cb تأثیر مثبتی بر بازده بارگذاری و محبوس‌سازی دارو دارد. همان‌گونه که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، بازده محبوس‌سازی دارو در نمونه‌های H₂C₁، H₁C₁ و H₁C₂ به ترتیب در حدود ۸۵، ۸۱ و ۷۴ درصد و بازده بارگذاری آن‌ها به ترتیب در حدود ۴۱، ۴۷ و ۶۰ درصد بود (p < ۰/۰۵). میزان بارگذاری و محبوس‌سازی دارو در نمونه‌ی H₁C₂ از دو نمونه‌ی دیگر بالاتر است. افزایش میزان بارگذاری با افزایش میزان Cb را می‌توان به وزن مولکولی بالاتر Cb در مقایسه با HPMC نسبت داد. افزایش وزن مولکولی پلیمر مخاط‌چسب، باعث تشکیل شبکه ماتریسی فشرده‌تر می‌شود و در نتیجه در طی فرایند تشکیل نانوذرات، امکان نفوذ دارو به محیط بیرون (فاز آلی) کمتر شده، مقدار دارویی که در طی فرایند شستشو از بین می‌رود نیز کاهش پیدا می‌کند، در نتیجه بازده بارگذاری و محبوس‌سازی افزایش می‌یابد [۱۴].

۲-۶ الگوی پراش پرتو ایکس (XRD)

به کمک آزمون پراش پرتو ایکس می‌توان ساختار بلوری ماده، نوع ماده و خلوص ماده را تعیین کرد. در این پژوهش مطالعه‌ی پراش پرتو ایکس روی میدازولام، نانوذرات بدون دارو و نانوذرات حاوی دارو انجام شد. نمونه‌ها روی صفحه‌ی شیشه‌ای قرار گرفتند و از پرتو ایکس با طول موج A ۱/۵ استفاده شد. زاویه‌ی ۲θ بین ۱ تا ۱۰ درجه با گام ۰/۰۲ درجه تغییر می‌کند که ۲θ زاویه‌ی بین امتداد منبع-نمونه و امتداد بازتاب نمونه است و θ زاویه‌ی بین پرتو تابش و صفحه‌ای است که نمونه روی آن قرار دارد.

۲-۷ گرماسنجی روبشی تفاضلی (DSC)

تمام نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت قبل از تجزیه و تحلیل گرمایی در رطوبت‌گیر (Desicator) نگهداری شدند. برای تعیین وضعیت فیزیکی میدازولام در نانوذرات، مطالعات گرماسنجی روبشی تفاضلی (DSC) روی میدازولام، نانوذرات بدون دارو و نانوذرات حاوی دارو انجام شد. نمونه‌هایی با وزن ۱۰ mg در بوته‌های آلومینیومی استاندارد با درب بسته قرار گرفتند. دمای دستگاه از ۲۵°C تا ۳۰۰°C با سرعت ۱۰°C. min⁻¹ تحت جریان نیتروژن افزایش یافت. در نهایت تغییرات جریان گرما بر حسب دما در نمودار گزارش شد.

۲-۸ ارزیابی آسیب‌شناسی بافت مخاط

مخاطی که در تماس با نانوذرات مخاط‌چسب برای بررسی بافت شناسی مورد استفاده قرار گرفت. پس از شست‌شو توسط بافر فسفات با pH ۶/۸ به منظور جلوگیری از تخریب سلول‌ها در فرمالین (Formalin) ۱۰٪ تثبیت شد [۱۲]. در نهایت آسیب‌شناسی مخاط توسط فرد متخصص بررسی شد، تا معلوم شود که دارو و فرمول‌بندی مخاط‌چسب تحریک و یا آسیبی به لایه‌های سلول‌های پوششی مخاط وارد نکرده باشند.

۲-۹ بررسی‌های آماری

در این مطالعه، داده‌های کمی با سه تکرار در هر گروه به صورت میانگین ± انحراف معیار (SD) گزارش شدند. برای مقایسه‌های تک‌زمانی از ANOVA یک‌طرفه و برای داده‌های چندزمانی از ANOVA دوطرفه استفاده شد. تحلیل‌ها با GraphPad Prism انجام و آزمون توکی به‌عنوان آزمون تعقیبی به کار رفت. سطح معنی‌داری p < ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

۳ بحث و نتایج

۳-۱ فرمول‌بندی نانوذرات مخاط‌چسب

ترکیب درصد Cb و HPMC به کار رفته در ساختار نانوذرات، بر خواص فیزیکی و شیمیایی، ساختاری و همچنین درصد رهايش دارو از نانوذرات تأثیر می‌گذارد. به همین دلیل برای انتخاب ترکیب مناسب از این پلیمرها در تهیه‌ی نانوذرات مخاط‌چسب، سه نمونه ترکیب‌بندی مطابق جدول ۱ و با نسبت‌های ۲ به ۱، ۱ به ۱، ۱ به ۲ از HPMC به Cb انتخاب و نانوذرات به روش امولسیون-تبخیر حلال تهیه شدند و بازده تولید، بازده بارگذاری دارو، بازده محبوس‌سازی دارو، درصد تورم، سرعت اولیه تورم، اندازه ذرات، خواص مخاط‌چسبی و درصد رهايش تجمعی برای هر سه نمونه اندازه‌گیری و

۳-۱-۲ اندازه نانو ذرات

باتوجه به شکل ۲ و جدول ۳، متوسط اندازه نانوذرات مخاطچسب H_2C_1 ، H_1C_1 و H_1C_2 به ترتیب $۲۹۳/۶$ ، $۴۱۶/۳$ و ۶۶۱ نانومتر است. متوسط اندازه نانوذرات H_1C_2 از متوسط اندازه دو نمونه دیگر بیشتر بود که می‌تواند به افزایش نسبت Cb مربوط شود. با افزایش نسبت Cb، گرانیوز فاز آبی بیشتر شده، در نتیجه پراکندگی فاز آبی در فاز آلی کندتر و سخت‌تر انجام می‌شود [۱۳]، در نتیجه در شرایط کاملاً مشابه برای تهیهی سه نمونه، اندازه نانوذرات مخاطچسب H_1C_2 نسبتاً بزرگ‌تر می‌شود.

۳-۱-۳ pH سطحی نانوذرات

باتوجه به این که pH بیش از حد اسیدی یا بیش از حد قلیایی ممکن است باعث تحریک مخاط گونه شود، از این رو pH سطح نانوذرات اندازه‌گیری شد [۱۰]. باتوجه به شکل (a) ۳ محدوده‌ی تغییرات pH نانوذرات بین $۵/۶$ تا $۵/۹$ بود ($p > ۰/۰۵$) که نشان‌دهنده تغییرات ناچیز pH نانوذرات در طی ۴ ساعت است. در سایر پژوهش‌های انجام‌شده، pH سطحی سامانه‌های مخاط-چسب بر پایه‌ی Cb (پلی‌آکرلیک‌اسید)، در همین محدوده گزارش شده است [۱۵].

جدول ۳ اندازه نانوذرات مخاطچسب

Table 3 Size of mucoadhesive nanoparticles

Samples	Particles size(nm)	PdI
H_2C_1	293.6	0.12
H_1C_1	416.3	0.21
H_1C_2	661	0.25

۳-۱-۴ درصد تورم نانوذرات

از آنجایی که قدرت مخاطچسبی نانوذرات پلیمری به میزان تورم آن‌ها بستگی دارد، اندازه‌گیری این کمیت بسیار مهم است. متورم‌شدن نانوذرات برای تداخل زنجیره‌های پلیمری با مخاط و چسبیدن به آن ضروری است [۱۶]. باتوجه به شکل (b) ۳، درصد تورم نمونه H_2C_1 با کمترین نسبت Cb $۱۰۱۶/۶۷$ ٪ و درصد تورم نمونه H_1C_2 با بیشترین نسبت Cb $۷۳۳/۳۳$ ٪ بود ($p < ۰/۰۵$). HPMC پلیمری به شدت آب‌دوست است و قدرت تورم بالایی دارد. درحالی‌که بالابودن وزن مولکولی و پیوندهای عرضی (تراکم شبکه‌ای بالا) در Cb، امکان نفوذ آب به درون شبکه ماتریسی پلیمر را کاهش می‌دهد، در نتیجه این پلیمر نسبت به HPMC مقدار آب کمتری جذب می‌کند. از طرفی درصد تورم نانوذرات با نسبت سطح به حجم آن‌ها رابطه معکوس داشته، درصد تورم در نمونه H_2C_1 که نسبت سطح به حجم کمتری دارد، بیشتر است [۱۵].

۳-۱-۵ خواص مخاطچسبی نانوذرات

با توجه به شکل (d) ۳ نیروی چسبندگی نانوذرات H_2C_1 ، H_1C_1 و H_1C_2 به ترتیب حدود $۴۶۰۰/۰۰$ ، $۵۷۸۳/۳۳$ ، $۸۵۶۰/۰۰$ (N/m^2) بود. همان‌گونه که مشاهده می‌شود، قدرت چسبندگی در نانوذرات H_1C_2 با بیشترین مقدار Cb، بیشتر از دو نمونه دیگر بود ($p < ۰/۰۵$). باتوجه به این که Cb پلیمری یونی است، همچنین به دلیل وزن مولکولی بالای این پلیمر و توانایی گروه‌های

کربوکسیل آن در تشکیل پیوندهای هیدروژنی قوی با زنجیره‌های الیگوساکارید (Oligosaccharide) مخاط، قدرت چسبندگی بالایی دارد [۱۷].

۳-۱-۶ درصد داروی شسته‌شده از نانوذرات

باتوجه به شکل (c) ۳ درصد داروی شسته‌شده از مخاط توسط محلول بزاق مصنوعی در نانوذرات H_2C_1 ، H_1C_1 و H_1C_2 به ترتیب $۲۱/۲۰$ ، ۲۰ و ۲۵ درصد بود. تفاوت معنی‌داری در درصد داروی شسته‌شده بین نمونه‌های H_2C_1 ، H_1C_1 و H_1C_2 وجود ندارد ($p > ۰/۰۵$).

۳-۱-۷ رهائش دارو

درصد رهائش تجمعی دارو از هر سه نمونه بررسی شد. رهائش از تمامی نانوذرات تحت شرایط سینک اندازه‌گیری شد و هر سه نمونه رهائشی کند و تدریجی را نشان دادند. باتوجه به شکل (e) ۳ درصد رهائش دارو در نانوذرات H_2C_1 ، H_1C_1 و H_1C_2 در مدت زمان ۲۴۰ دقیقه به ترتیب $۸۲/۶۶$ ٪، $۸۷/۴۸$ ٪ و $۸۲/۶۶$ ٪ بود ($p < ۰/۰۵$). درون‌گیری مناسب دارو در هسته‌ی نانوذرات، موجب کندشدن روند رهائش و کاهش رهائش آنی شده است. نانوذرات مخاطچسب با جذب آب متورم می‌شوند که این افزایش تورم افزون بر افزایش سطح انتقال جرم، باعث افزایش اندازه مش (روزنه‌ها) و ضریب نفوذ دارو در شبکه پلیمری شده، در نتیجه درصد رهائش دارو افزایش می‌یابد.

۳-۲ انتخاب نمونه بهینه

برای انتخاب نمونه بهینه نانوذرات مخاطچسب، عوامل متعددی شامل اندازه نانوذرات (بهینه بین ۲۰۰ تا ۵۰۰ نانومتر برای جلوگیری از عبور از مخاط)، تورم کم (برای جلوگیری از آزادشدن دارو در بستر فیلم دهانی)، بازده بالای محبوس‌سازی و بارگذاری دارو و ترکیب درصد مناسب کربومر (برای پایداری در pH اسیدی و جلوگیری از حل‌شدن در بستر فیلم) باید در نظر گرفته شود. نمونه H_1C_2 با بازده تولید و بارگذاری دارویی بالا، تورم مناسب، چسبندگی مطلوب و رهائش مؤثر دارو، به‌عنوان نمونه بهینه انتخاب شد [۱۸]. این فرمول‌بندی بهینه دارای میانگین اندازه ذره ۶۶۱ نانومتر است که این محدوده اندازه برای دارورسانی گونه‌ای مناسب تلقی می‌شود. نانوذرات با اندازه کمتر از ۱ میکرون توانایی چسبندگی بالایی به سطح مخاط داشته، بدون نفوذ عمیق به بافت اپی‌تلیال، به‌طور ایمن روی سطح باقی می‌مانند. این ویژگی به‌ویژه در درمان‌های کودکان اهمیت دارد. همچنین این اندازه امکان ایجاد مخزن دارویی پایداری بر روی سطح مخاط را فراهم کرده، باعث افزایش زمان تماس و تسهیل رهائش پیوسته داروی میدازولام - که خود دارای چربی‌دوستی مناسب است - می‌شود. بنابراین اندازه ۶۶۱ نانومتر با نیازهای دارورسانی دهانی سازگار است [۱۶].

۳-۲-۱ مطالعات ریخت‌شناسی

شکل و ساختار نانوذرات H_1C_2 با استفاده از تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت (شکل (a) ۴). نتایج نشان داد تمام نانوذرات پلیمری شکل کروی دارند و دارای سطحی تقریباً صاف هستند.

به بخش فیکسی و k_2t^{2m} مربوط به آسایش زنجیره‌های پلیمر است. پارامترهای رهائش و دو پارامتر مهم آماری ((Coefficient of Determination) r^2 و AIC (Akaike Information Criterion) برای تعیین سازوکار رهائش توسط نرم‌افزار DDSolver در جدول ۴ ارائه شدند. ۶۰٪ داده‌ها برای تحلیل آماری استفاده شد. با توجه به جدول ۴ مدل پپاس-ساهلین برای توصیف سازوکار رهائش براساس پارامترهای آماری r^2 (مقدار بالاتر) و AIC (مقدار پایین‌تر) بهتر بود. این نتیجه حاکی از آن است که رهائش دارو از نانوذرات با ترکیبی از نفوذ فیکسی و آسایش زنجیره‌های پلیمر کنترل می‌شود [۱۹].

۳-۲-۵ ارزیابی آسیب‌شناسی بافت مخاط

به‌منظور بررسی آسیب‌های احتمالی اجزای تشکیل‌دهنده‌ی نانوذرات بر مخاط گونه‌ی موش، ارزیابی آسیب‌شناسی بافت مخاط انجام شد. شکل ۵ تصویر میکروسکوپی بافت مخاط گونه‌ی موش بدون تماس و پس از تماس با نانوذرات نهایی را نشان می‌دهد. همان‌طور که در شکل ۵ (a) و (b) دیده می‌شود، ارزیابی آسیب‌شناسی بافت مخاط نشان داد که نانوذرات تهیه شده بر ساختار میکروسکوپی بافت مخاطی گونه‌ی موش اثر منفی نگذاشته و غشای سلولی در تمام شکل‌ها کاملاً دست‌نخورده است. هیچ آسیبی به لایه‌های اپیتلیوم وارد نشده است و مرگ سلولی نیز وجود ندارد. هیچ التهابی در زیر لایه‌ی اپیتلیوم دیده نشد و بافت همبند، عروق خونی و لایه ماهیچه‌ای در هر دو نمونه طبیعی بودند. پس می‌توان نتیجه گرفت که نانوذرات تهیه‌شده هیچ‌گونه آسیبی به مخاط گونه در طول درمان وارد نمی‌کند. پلیمرهای Cb و HPMC از جمله مواد تأیید شده و زیست‌سازگار هستند که سال‌ها در فرمول‌بندی‌های خوراکی و داروهای کودکان به‌کار رفته‌اند. باین‌وجود، برای تکمیل ارزیابی ایمنی این سامانه، پیشنهاد می‌شود در مراحل بعد، آزمون‌های سمیت مزمن، تحریک بافتی در دوزهای تکرارشونده، ارزیابی مارکرهای التهابی و مطالعات زیست‌سازگاری به صورت منظم انجام شود تا ایمنی کامل مصرف بلندمدت این سامانه برای کودکان تأیید شود.

۳-۲-۲ الگوی پراش پرتو ایکس (XRD)

شکل ۴(b) مربوط به الگوی پراش اشعه ایکس میدازولام، نانوذرات H_1C_2 بدون دارو و نانوذرات H_1C_2 حاوی دارو است. اوج‌های تیز مشخص در زاویه‌ی پراش 2θ ، 13.59° ، 15.01° ، 15.47° ، 24.15° نشان‌دهنده ماهیت بلورین دارو است. نانوذرات خالی یک اوج پهن از 13° تا 28° و یک اوج دیگر از 4° تا 12° را دارند (البته اوج 4° تا 12° را می‌توان خطای دستگاه هم در نظر گرفت). این الگو ماهیت نیمه‌بلوری پلیمرها را تأیید می‌کند. نبود اوج‌های بلوری میدازولام در نانوذرات حاوی دارو، بیانگر پراکنده شدن مولکولی دارو در نانوذرات و کاهش درصد بلورینگی دارو است.

۳-۲-۳ گرماسنج روبشی تفاضلی (DSC)

نتایج آزمون DSC نشان داد (شکل ۴(c)) که میدازولام خالص دارای اوج تیز ذوب در $166/8^\circ C$ است که ساختار بلوری آن را تأیید می‌کند، درحالی‌که نانوذرات H_1C_2 بدون دارو، دو اوج در $62/4^\circ C$ (تبخیر حلال) و $193/5^\circ C$ (ذوب اجزای پلیمری) نشان دادند که بیانگر سازگاری بین اجزای تشکیل‌دهنده نانوذرات بود. در نانوذرات حاوی دارو، اوج ذوب میدازولام مشاهده نشد و دو اوج جدید در $70/3^\circ C$ و $217/6^\circ C$ ظاهر شد که افزایش دمای ذوب نسبت به نانوذرات خالی و ناپدیدشدن اوج ذوب دارو، حاکی از توزیع یکنواخت و سازگاری مناسب دارو با ماتریس پلیمری، همچنین بی‌شکل شدن (Amorphization) دارو در نانوذرات بود که می‌تواند منجر به بهبود انحلال‌پذیری و رهائش دارو شود.

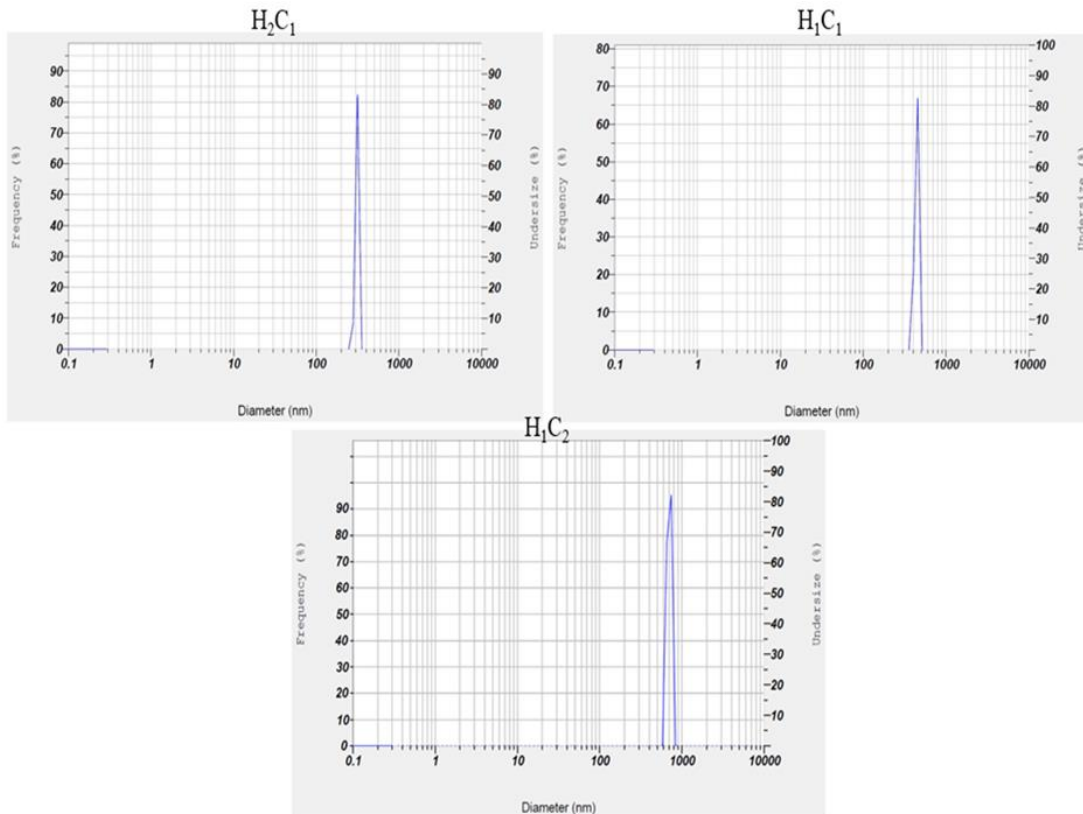
۳-۲-۴ تعیین سازوکار رهائش دارو

برای تعیین سازوکار رهائش دارو از نانوذرات بهینه، مقادیر تجربی داروی آزاد شده با مدل‌های تجربی پپاس-کروسمایر ($M_t/M_\infty = kt^m$)، پپاس-ساهلین ($M_t/M_\infty = k_1t^m + k_2t^{2m}$) و هیگوچی ($M_t/M_\infty = kt^{0.5}$) برآزش شد [۱۹]. در این مدل‌ها " M_t/M_∞ " کسری از دارو است که در زمان t رهائش پیدا کرده، k ثابت سرعت نفوذ، n شاخص توانی سازوکار انتقال دارو، m نمایانگر نفوذ کاملاً فیکسی برای هر سامانه از هر شکلی، k_1t^m مربوط

جدول ۴ نتایج برازش داده‌های رهائش نانوذرات H_1C_2 با مدل‌های تجربی

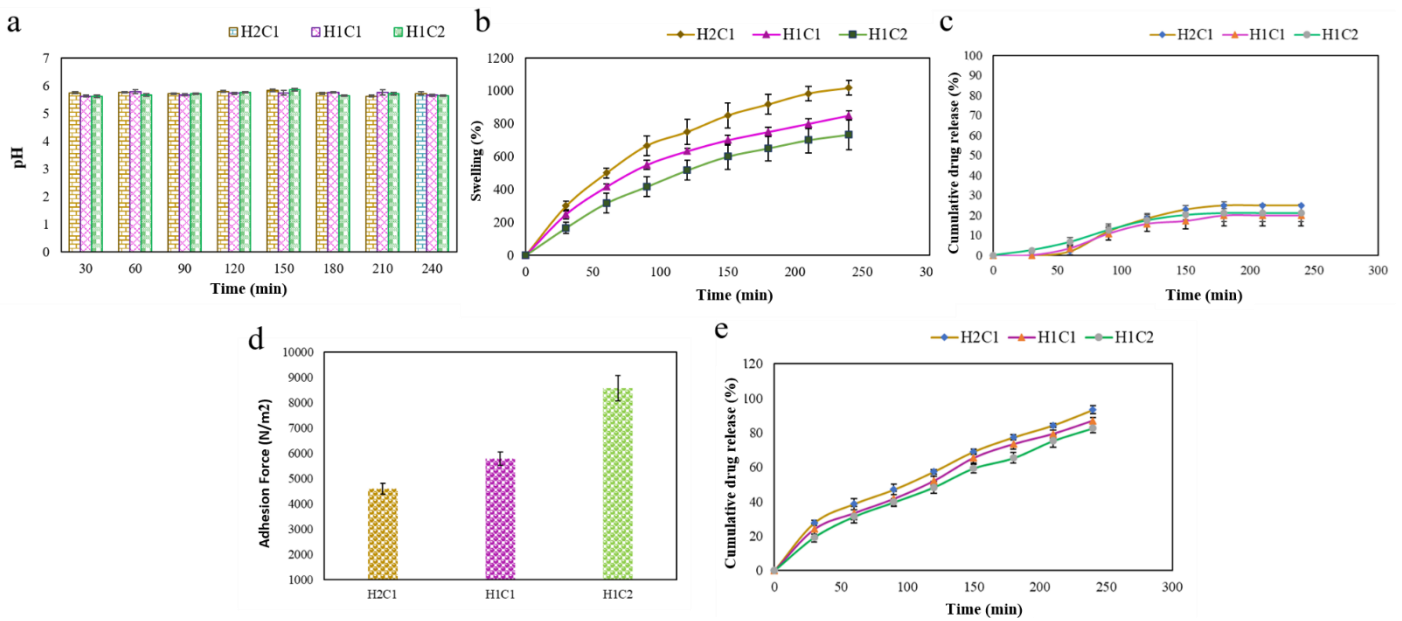
Table 4 Results of fitting H_1C_2 nanoparticle release data with experimental models

Higuchi			Peppas-Sahlin				Peppas-Krosmeier				
AIC	r^2	k	AIC	r^2	m	k_2	k_1	AIC	r^2	n	k
51.990	0.9595	4.843	21.5049	0.9990	0.534	0.103	2.494	23.3711	0.9985	0.720	1.586



شکل ۲ نمودارهای اندازه‌ی متوسط نانوذرات مخاط‌چسب

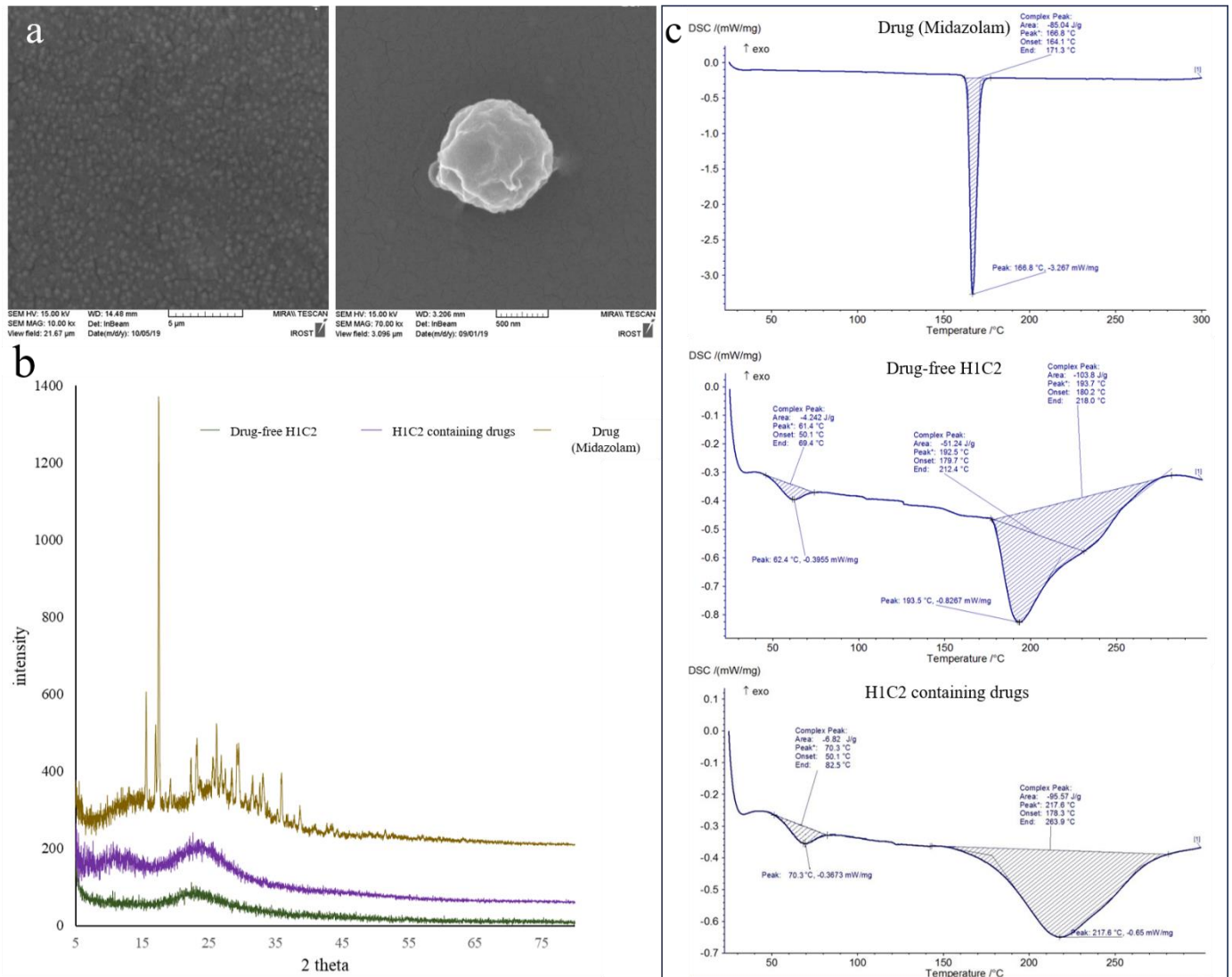
Figure 2 Average size diagrams of mucoadhesive nanoparticles



شکل ۳ نمودارهای (a) تغییرات pH، (b) درصد تورم، (c) درصد داروی شسته‌شده، (d) نیروی چسبندگی و (e) رهايش تجمعی دارو از نانوذرات H_2C_1 و H_1C_1

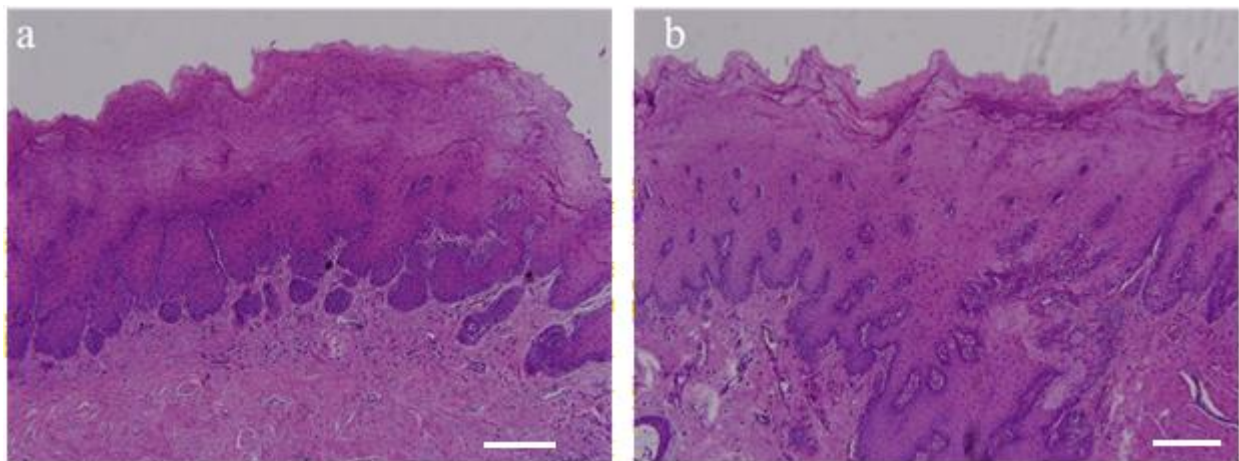
H_1C_2

Figure 3 Graphs of (a) pH changes, (b) swelling percentage, (c) percentage of eluted drug, (d) adhesive force, and (e) cumulative drug release from H_2C_1 , H_1C_1 , and H_1C_2 nanoparticles



شکل ۴ مشخصه‌یابی نانوذرات H₁C₂ (a) تصاویر FE-SEM (بزرگ‌نمایی ۷۰ kx و بزرگ‌نمایی ۵ kx)، (b) الگوی XRD دارو (میدازولام)، نانوذرات H₁C₂ بدون دارو و نانوذرات H₁C₂ حاوی دارو و (c) گرمانگار DSC دارو (میدازولام)، نانوذرات H₁C₂ بدون دارو و نانوذرات H₁C₂ حاوی دارو

Figure 4 Characterization of H₁C₂ nanoparticles: (a) FE-SEM micrographs showing nanoparticle morphology at two magnifications (5,000× and 70,000×); (b) XRD patterns comparing crystalline midazolam with drug-free H₁C₂ nanoparticles and drug-loaded H₁C₂ nanoparticles; (c) DSC thermograms of pure midazolam, blank H₁C₂ nanoparticles, and midazolam-loaded H₁C₂ nanoparticles



شکل ۵ تصاویر هیستوپاتولوژی مخاط گونه: (الف) در تماس با نانوذرات، مقیاس: ۱۰۰۰ میکرومتر. (ب) بدون تماس با نانوذرات، مقیاس: ۱۰۰۰ میکرومتر.

Figure 5 Histopathological images of buccal mucosa: (a) treated, scale bars: 1000 μm. (b) no treat, scale bars: 1000 μm

۴ نتیجه‌گیری

در این مطالعه، سامانه نانومتری مخاط‌چسب مبتنی بر ترکیب پلیمری کربومر و هیدروکسی پروپیل متیل سلولوز، با موفقیت برای رهایش کنترل شده میدازولام طراحی و ارزیابی شد. فرمول‌بندی بهینه با دارابودن اندازه مناسب (~۶۶۱ نانومتر)، قدرت چسبندگی بالا (۸۵۶۰ N/m²)، ظرفیت بارگذاری مطلوب (۶۰٪) و الگوی رهایش آهسته و پایدار، گامی مؤثر در جهت غلبه بر چالش‌های روش‌های سنتی تجویز دارو در صرع کودکان به شمار می‌رود. علاوه بر این، ماهیت غیرتهاجمی و بدون درد این سامانه دارورسانی گونه‌ای، همراه با امکان کاهش دفعات مصرف به دلیل رهایش کنترل شده، می‌تواند منجر به پذیرش بهتر درمان و بهبود پایبندی به رژیم دارویی در کودکان شود که خود چالشی محوری در مدیریت مؤثر صرع اطفال محسوب می‌شود. باتوجه به نتایج امیدوارکننده حاصل از ارزیابی‌های برون تنی (In-vitro)، انجام مطالعات پیش‌بالینی و بالینی بعدی برای تأیید نهایی کارایی و ایمنی این سامانه نوین پیشنهاد می‌شود. در صورت موفقیت، این فناوری قابلیت ایجاد تحولی مثبت در راستای بهبود کیفیت زندگی و تسهیل مدیریت درمانی در بیماران مبتلا به صرع خصوصاً کودکان را داراست.

مراجع

- Monajjemzadeh F., Gholizadeh N., Yousefzadeh Mobaraki N., Jelvehgari M., Physicochemical and in vitro mucoadhesive properties of microparticles/discs of betamethasone for the management of oral lichen planus, *Pharmaceutical Development and Technology*, 21(8), 996-1005, 2016.
- Nafee N. A., Ismail F. A., Boraie N. A., Mortada L. M., Mucoadhesive delivery systems. I. Evaluation of mucoadhesive polymers for buccal tablet formulation, *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 30(9), 985-993, 2004.
- Nair A. B., Kumria R., Harsha S., Attimarad M., Al-Dhubiab B. E., Alhaider I. A., In vitro techniques to evaluate buccal films, *Journal of Controlled Release*, 166(1), 10-21, 2013.
- Nanjwade, B., Parikh, K., Deshmukh, R., Nanjwade, V., Gaikwad, K., Thakare, S., & Manvi, F. (2011). Development and evaluation of intranasal mucoadhesive microspheres of neostigmine bromide, *Pharm Anal Acta*, 2(2), 1-6.
- Rezaee F., Ganji F., Formulation, characterization, and optimization of captopril fast-dissolving oral films, *AAPS PharmSciTech*, 19(5), 2203-2212, 2018.
- Sosnik A., das Neves J., Sarmiento B., Mucoadhesive polymers in the design of nano-drug delivery systems for administration by non-parenteral routes: A review, *Progress in Polymer Science*, 39(12), 2030-2075, 2014.
- Tao Y., Lu Y., Sun Y., Gu B., Lu W., Pan J., Development of mucoadhesive microspheres of acyclovir with enhanced bioavailability, *International Journal of Pharmaceutics*, 378(1-2), 30-36, 2009.
- Tiyaboonchai W., Rodleang I., Ounaroon A., Mucoadhesive polyethylenimine-dextran sulfate nanoparticles containing Punica granatum peel extract as a novel sustained-release antimicrobial, *Pharmaceutical Development and Technology*, 20(4), 426-432, 2015.
- Zhang Y., Huo M., Zhou J., Zou A., Li W., Yao C., Xie S., DDSolver: An add-in program for modeling and comparison of drug dissolution profiles, *The AAPS Journal*, 12(3), 263-271, 2010.
- Anderson G. D. and Saneto R. P., Current oral and non-oral routes of antiepileptic drug delivery, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 64(10), 911-918, 2012.
- Ansari M., Sadarani B., Majumdar A., Optimization and evaluation of mucoadhesive buccal films loaded with resveratrol, *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 44, 278-288, 2018.
- Bashiri G., Shojaosadati S. A., Abdollahi M., Synthesis and characterization of Schiff base containing bovine serum albumin-gum arabic aldehyde hybrid nanogels via inverse miniemulsion for delivery of anticancer drug, *International Journal of Biological Macromolecules*, 170, 222-231, 2021.
- Garnock-Jones K. P., (2012). Oromucosal midazolam: A review of its use in pediatric patients with prolonged acute convulsive seizures, *Pediatric Drugs*, 14(4), 251-261, 2012.
- Hashemi-Afzal F., Fallahi H., Bagheri F., Collins M. N., Eslaminejad M. B., Seitz H., Advancements in hydrogel design for articular cartilage regeneration: A comprehensive review, *Bioactive Materials*, 43, 1-31, 2025.
- Hashemi-Afzal F., Ganji F., Vasheghani-Farahani E., Orally disintegrating films based on pullulan and HPMC with carbopol-coated mucoadhesive nanoparticles for dual-pattern drug release, *International Journal of Biological Macromolecules*, 306, 141568, 2025.
- Khatoun N., Rao N. R., Reddy B. M., Overview on fast dissolving oral films, *International Journal of Chemistry and Pharmaceutical Sciences*, 1(1), 63-75, 2013.
- Kockisch S., Rees G. D., Tsibouklis J., Smart J. D., Mucoadhesive, triclosan-loaded polymer microspheres for application to the oral cavity: Preparation and controlled release characteristics, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 59(1), 207-216, 2005.
- Kockisch S., Rees G. D., Young S. A., Tsibouklis J., Smart J. D., Polymeric microspheres for drug delivery to the oral cavity: an in vitro evaluation of mucoadhesive potential, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 92(8), 1614-1623, 2003.
- Madhav N. S., Shakya A. K., Shakya P., Singh K., Orotransmucosal drug delivery systems: A review, *Journal of Controlled Release*, 140(1), 2-11, 2009.