Formulacja mukoadhezyjnej postaci leku do miejscowego stosowania w jamie ustnej – aplikacja, wytwarzanie, metody badań

Michał Krzysztof Kołodziejczyk¹, Monika Klimczuk¹, Justyna Kołodziejska¹,
Małgorzata Godlewska¹, Michał Nachajski¹

¹Zakład Technologii Postaci Leku, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Polska

Farmacja Polska, ISSN 0014-8261 (print); ISSN 2544-8552 (on-line)

The formulation of mucoadhesive drug form for topical application in the oral cavity – application, manufacturing technology, and testing methods

There are over four hundred different diseases occurring within the oral cavity. These include, among others, mucositis, periodontitis, gingivitis, caries, oral infections, which are usually treated topically. Active substances for topical application in the oral cavity can be administered in the form of polymer films. Polymer films can ensure the delivery of the active substances directly to the affected area and a longer presence of the active substances in the oral cavity, which increases the effectiveness of the treatment. The film is easy to apply and the treatment can be discontinued immediately. The sustained-release systems can reduce the frequency of drug administration, the doses, and side effects.

Infections can be caused by damage to the mucosa, and one of the benefits of buccal films is to create a protective barrier on the surface of the damaged tissue, which alleviates pain and increases the effectiveness of the treatment. Depending on the active substance applied, the films may have antiseptic, antibacterial, antifungal, anti-inflammatory, and analgesic effects.

The paper describes the characteristics of the site of application of polymer films, i.e. the oral mucosa and the saliva environment. The advantages of a topical mucoadhesive drug form in comparison with tablets, liquid, and semi-liquid formulations have been presented. Furthermore, characteristics of an ideal film for topical application in the oral cavity have been listed. Important factors which influence mucoadhesion are factors related to the properties of polymers as well as physical and physiological factors.

Currently, there are six theories of mucoadhesion, such as adsorption theory, diffusion theory, electrostatic theory, fracture theory, wettability theory, and mechanical theory. The predominant methods of mucoadhesion testing are in vitro methods, which consist in testing the forces needed to break the connection between the mucoadhesive substance and the model membrane. The most important test methods include tensile strength and percentage elongation, folding endurance.

Adres do korespondencji

Michał Krzysztof Kołodziejczyk, Zakład Technologii Postaci Leku, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Muszyńskiego 1, 90-151, Łódź, Polska; e-mail: michal.kolodziejczyk@umed.lodz.pl

Źródła finansowania

503/3-021-02/503-31-001-19-00

Konflikt interesów

Nie istnieje konflikt interesów.

Otrzymano: 2021.11.09

Zaakceptowano: 2021.12.17

Opublikowano on-line: 2021.12.17

DOI

10.32383/farmopol/144974

ORCID

Michał Krzysztof Kołodziejczyk

(ORCID iD: 0000-0002-1249-4648)

Monika Klimczuk (ORCID iD: 0000-0002-2385-5912)

Justyna Kołodziejska (ORCID iD: 0000-0002-8702-1642)

Małgorzata Godlewska (ORCID iD: 0000-0002-8049-8894)

Michał Nachajski (ORCID iD: 0000-0002-8438-0666)

Copyright

© Polskie Towarzystwo Farmaceutyczne

To jest artykuł o otwartym dostępie,
na licencji CC BY NC

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

Wprowadzenie

Infekcje bakteryjne i grzybicze jamy ustnej oraz ich skutki w postaci stanów zapalnych to powszechnie występujące dolegliwości stomatologiczne. Nośnikiem dla substancji leczniczych stosowanych w schorzeniach stomatologicznych mogą być mukoadhezyjne filmy polimerowe. Są one w stanie zapewnić dłuższą obecność substancji czynnej w jamie ustnej i jej dostarczenie bezpośrednio do miejsca objętego chorobą. Jest to postać leku bezpieczna i wygodna w zastosowaniu, nawet u niewspółpracujących pacjentów. Mukoadhezyjne filmy polimerowe są postacią leku, której zastosowanie miejscowo w chorobach jamy ustnej ma wiele zalet. Umożliwiają prostą aplikację i szybkie przerwanie leczenia. Dobierając odpowiednie substancje pomocnicze można uzyskać systemy o przedłużonym uwalnianiu substancji leczniczej. Pozwala to zmniejszyć częstotliwość podawania leku, dawkę i ewentualne działania niepożądane. Istotne jest, że substancją leczniczą trafia bezpośrednio w miejsce objęte stanem chorobowym, co zwiększa efektywność leczenia. Filmy nie stanowią przeszkody w mówieniu i mogą być podawane także dzieciom, osobom starszym, pacjentom, którzy mają problemy z połykaniem doustnych postaci leku

Charakterystyka miejsca aplikacji

Powierzchnia zewnętrzna jamy ustnej to błona śluzowa, w której skład wchodzi nabłonek wielowarstwowy płaski, błona podstawna i blaszka właściwa, która pokrywa błonę podśluzową zawierającą nerwy i naczynia krwionośne. Wyróżnia się trzy rodzaje błony śluzowej występującej w jamie ustnej: błona śluzowa żująca, która znajduje się na dziąsłach i podniebieniu twardym; błona śluzowa wyściełająca policzki, wargi, dno jamy ustnej, spodnią część języka i podniebienie miękkie oraz specjalistyczna błona śluzowa, która pokrywa górną powierzchnię języka i część warg [1–3]. Stanowią one kolejno: 25%, 60% oraz 15% błony śluzowej jamy ustnej [2, 4, 5].

Jedną z głównych cech środowiska jamy ustnej jest ciągłe wydzielanie śliny przez większe i mniejsze gruczoły ślinowe. Ślina ma funkcję ochronną dla tkanek znajdujących się w jamie ustnej. Stanowi bufor, który utrzymuje pH w zakresie od 5,75 do 7,05, chociaż może ono spadać nawet do 2 podczas picia kwaśnych napojów. Głównym składnikiem śliny jest woda, ale również związki organiczne, nieorganiczne i pierwiastki śladowe [2]. Powierzchnia błony śluzowej jest ciągle zmywana przez 0,5 do 2 litrów śliny dziennie [6]. Wilgotność w jamie ustnej wynosi przeważnie 100%, a temperatura, chociaż zwykle oscyluje wokół 37°C, może wahać się

The polymers used to make the films are of the first and second generation. The first group includes anionic, cationic, and non-ionic polymers. The second generation includes thiolated polymers, which can extend the residence time of the therapeutic substance at the site of application and allow for its controlled release. The methods of obtaining polymer films include the pouring method, hot-melt extrusion method, semi-solid casting production method, pressing method, solid dispersion extrusion method, and methods using 3D printers. The film tests include the following: the study of the gel mass, measurement of the film thickness, pH, swelling index, moisture absorption, percentage of moisture, surface characteristics, organoleptic testing, chemical stability testing, disintegration time, drug content uniformity, and *in vitro* drug release.

Keywords: mucoadhesive film, oral cavity diseases, mucoadhesion theories, polymers, film production and testing methods, texturometer.

© Farm Pol, 2021, 77 (10): 622–633

od 5 do nawet 55°C. Dzieje się tak na przykład podczas przyjmowania bardzo zimnych oraz gorących pokarmów i napojów. Podczas żucia może zostać wygenerowana siła wynosząca nawet do 500 N. Zdrowa jama ustna stanowi środowisko dla wielu mikroorganizmów – grzybów, bakterii i wirusów. Komórki nabłonka otoczone są przez śluz, który zbudowany jest z kompleksów złożonych z białek i węglowodanów. Wydzielany jest przez gruczoły ślinowe jako część śliny. Ma on funkcję nawilżającą, dzięki czemu ułatwia komórkom ruch względem siebie [2]. Ze względu na silne właściwości kohezyjne, ściśle przylega do komórek nabłonka tworząc na nich warstwę żelu. Pełni także funkcję ochronną. Znana jest też rola śluzu jako bariery dla wchłaniania różnych substancji [7]. Przy fizjologicznym pH śluz ma zazwyczaj ładunek ujemny, co związane jest z obecnością reszt kwasowych i ma znaczenie dla mukoadhezji [2] oraz warunkuje utrzymanie mukoadhezyjnych postaci leku w miejscu aplikacji przez nawet kilka godzin [8].

Zalety mukoadhezyjnej postaci leku o działaniu miejscowym

W leczeniu chorób jamy ustnej, miejscowe doustne podanie leku jest bardziej efektywnym rozwiązaniem niż podanie ogólnoustrojowe. Pozwala na dostarczenie mniejszej dawki leku bezpośrednio do miejsca objętego chorobą, dzięki czemu można ograniczyć skutki uboczne niektórych substancji. Wiele chorób jamy ustnej wymaga zastosowania przewlekłych schematów leczenia, a błona śluzowa policzki wydaje się być dobrym miejscem do zastosowania systemów o przedłużonym i kontrolowanym uwalnianiu [4]. Podpoliczkowy system mukoadhezyjny

daje więc szansę na zmniejszenie częstotliwości podawania leku z kilku do np. jednego razu dziennie (9). Można wyróżnić ponad czterysta różnych schorzeń występujących w obrębie jamy ustnej. Są to między innymi zapalenie błony śluzowej, przyzębia, dziąseł, próchnica, infekcje jamy ustnej i zwykle leczone są miejscowo. Infekcje mogą być spowodowane uszkodzeniem błony śluzowej, a jedną z zalet filmów podpoliczkowych jest tworzenie bariery ochronnej na uszkodzonej tkance [4], co zmniejsza ból i zwiększa efektywność leczenia [10]. W zależności od zastosowanej API, filmy mogą mieć działanie antyseptyczne, przeciwbakteryjne, przeciwgrzybicze, przeciwzapalne, przeciwbólowe.

Błona śluzowa policzka ma niewielką powierzchnię, a czas przebywania na niej filmu jest ograniczony. Pozwala jednak na zastosowanie leków wykazujących wysoką moc terapeutyczną podanych w niewielkich ilościach [4]. Przyjmuje się, że wielkość filmu podpoliczkowego powinna zawierać się w przedziale 1–3 cm² [11]. Zazwyczaj do filmu wprowadza się 5–30% w/w składnika czynnego [12]. Substancje hydrofilowe występują w postaci rozpuszczonej lub w formie roztworu stałego, natomiast hydrofobowe są równomiernie rozproszone [13]. Aby wprowadzić do filmu lipofilową API, można przeprowadzić mikronizację, mielenie, emulgowanie. Zmniejsza to rozmiar cząsteczek, a zwiększa ich powierzchnię.

Filmy podpoliczkowe mają przewagę nad innymi mukoadhezyjnymi postaciami leku podawanymi w tej samej przestrzeni, np. tabletkami, ze względu na ich elastyczność, a więc i komfort stosowania [12]. Górąją też nad dobrze akceptowanymi przez pacjentów postaciami półpłynnymi i płynnymi ze względu na dłuższą retencję w jamie ustnej, co skutkuje silniejszym efektem terapeutycznym [14].

Można wyróżnić następujące cechy idealnego filmu podpoliczkowego o działaniu miejscowym:

- jest łatwy do podania samodzielnie, bez obecności wody, gdziekolwiek i kiedykolwiek;
- nie stanowi przeszkody dla np. mówienia;
- jest bezpieczny, efektywny;
- jest stabilny przez dłuższy czas [2];
- pozwala na obniżenie dawki leku i związanych z nim skutków ubocznych;
- może zostać podany nieprzytomnym pacjentom, niewspółpracującym, dzieciom, osobom starszym z trudnościami z przełykaniem;
- umożliwia przebywanie leku w jamie ustnej przez dłuższy czas [7];
- jest tani w produkcji;
- nie posiada smaku lub posiada smak akceptowalny przez pacjenta;
- wykazuje odpowiednią elastyczność [15];

- właściwie nie daje ryzyka zadławienia;
- jest łatwy w transporcie i przechowywaniu [16];
- szybko przylega do błony śluzowej jamy ustnej i ma odpowiednią trwałość mechaniczną
- zapewnia współpracę pacjenta;
- nie powoduje wtórnych infekcji;
- jest odpowiednio odporny na wypłukiwanie przez ślinę [17];
- jest wystarczająco odporny na pękanie spowodowane naprężeniami wynikającymi z ruchów w jamie ustnej;
- nie wykazuje tendencji do zbyt dużego pęcznienia [11];
- umożliwia proste zakończenie przyjmowania [18].

Czynniki wpływające na mukoadhezję

Na siłę adhezji polimeru do błony śluzowej wpływ ma rodzaj polimeru i otaczające środowisko. Można wyróżnić kilkanaście ważnych czynników wpływających na mukoadhezję [7].

Czynniki związane z właściwościami polimerów:

- elastyczność łańcuchów polimeru – ma znaczenie dla przenikania łańcuchów polimerowych do warstw mucyny;
- gęstość usieciowania polimeru – obok wielkości porów i masy molowej jest jednym z głównych czynników decydujących o strukturze przestrzennej wytworzonej sieci polimeru; zwiększona gęstość usieciowania, sprawia, że woda słabiej dyfunduje w sieć polimerową, co skutkuje słabszym pęcznieniem i zmniejsza przenikanie polimeru do warstwy mucyny;
- hydrofilowość – polimery mukoadhezyjne posiadają hydrofilowe grupy funkcyjne (np. karboksylowa, hydroksylowa), które umożliwiają tworzenie wiązań wodorowych, pęcznienie w środowisku wodnym oraz efektywne przenikanie polimeru do warstw mucyny;
- ładunek – umożliwia wytworzenie oddziaływań elektrostatycznych;
- masa molowa polimeru – zazwyczaj siła adhezji rośnie wraz ze wzrostem masy molowej polimeru;
- pęcznienie – umożliwia wytworzenie mukoadhezyjnej sieci przestrzennej polimeru, która ma zdolność przenikania do mucyny i tworzenia z nią wiązań wodorowych oraz oddziaływań elektrostatycznych;
- stężenie polimeru – każdy polimer ma optymalne stężenie, przy którym możliwe jest utworzenie silnego wiązania adhezyjnego z mucyną; zbyt niskie stężenie nie zapewnia odpowiedniej ilości połączeń łańcuchów

polimerowych z mucyną, a przekroczenie optymalnego stężenia nie zwiększa możliwości mukoadhezyjnych, a wręcz je obniża;

- zdolność do tworzenia wiązań wodorowych – występuje dzięki temu, że polimery posiadają hydrofilowe grupy funkcyjne.

Czynniki fizyczne:

- pH – pH polimeru i otaczającego go mikrośrodowiska wpływa na stopień jonizacji i właściwości mukoadhezyjne polimeru;
- czas kontaktu polimeru i mucyny – warunkuje stopień pęcznienia i przenikania obu warstw; siła wiązań mukoadhezyjnych rośnie wraz ze wzrostem czasu kontaktu polimeru z mucyną.

Czynniki fizjologiczne:

- szybkość odnowy warstwy mucyny – czas przebywania mukoadhezyjnej postaci leku na powierzchni błony śluzowej jest ograniczony czasem odnowy warstwy mucyny, który u człowieka został obliczony na czas między 12 a 24 h;
- stan chorobowy – choroby współistniejące mogą wpłynąć na ilość i właściwości produkowanego śluzu; istotne znaczenie mają także np. wzrost temperatury ciała, zakażenia bakteryjne, grzybicze, stany zapalne, alergiczny nieżyt nosa.

Teorie mukoadhezji

Źródła literaturowe wskazują sześć teorii opisujących zjawisko mukoadhezji. Są to teorie: adsorpcyjna, dyfuzyjna, elektrostatyczna, złamania, zwilżania, mechaniczna [8, 21–24]. Trudno jest wyjaśnić zjawisko mukoadhezji jednoznacznie. Liczba teorii jest konsekwencją wielu różnych oddziaływań między materiałami przylegającymi do siebie [8].

Teoria adsorpcyjna

Zgodnie z powyższą teorią, po wstępnym kontakcie dwóch powierzchni, adhezja może nastąpić dzięki siłom powierzchniowym działającym pomiędzy nimi. Są to przede wszystkim wiązania Van der Waalsa, wiązania wodorowe i oddziaływania hydrofobowe [7, 8].

Teoria dyfuzyjna

Teoria ta bazuje na wzajemnym przenikaniu się i splątaniu glikoprotein mucyny z łańcuchami polimerowymi, co prowadzi do utworzenia wiązań adhezyjnych [12]. Na wzajemną dyfuzję makrocząstek wpływ ma kilka czynników. Są to między innymi: odpowiednia ekspozycja na kontakt obu powierzchni, podobieństwo struktur

chemicznych, elastyczność łańcucha polimeru, współczynnik dyfuzji polimeru mukoadhezyjnego [7]. Powstałe wiązania adhezyjne są tym silniejsze, im głębsza wzajemna penetracja zachodzi [8]. Nie określono dokładnie jak głęboko powinny wnikać w siebie oddziałujące ze sobą warstwy, aby doszło do wytworzenia efektywnego wiązania, jednak przyjmuje się, że głębokość ta mieści się w zakresie od 0,2 do 0,5 μm [7].

Teoria elektrostatyczna

Według tej teorii, pomiędzy glikoproteinami mucyny a mukoadhezyjnym polimerem występują różnice w ładunku elektrycznym. W wyniku kontaktu obu powierzchni następuje transfer elektronów, w następstwie czego powstaje podwójna warstwa ładunku elektrycznego [7, 8, 17, 25]. Analogicznie działa kondensator, który jest naładowany, gdy następuje kontakt dwóch powierzchni, a rozładowany, gdy są one odseparowane [6].

Teoria złamania

Teoria ta wiąże siłę, która potrzebna jest do oddzielenia dwóch powierzchni od siebie z siłą wiązania adhezyjnego obu powierzchni. Uważa się, że potrzeba przyłożyć większą siłę, aby zerwać wiązanie, gdy łańcuch polimerowy jest dłuższy, a stopień jego usieciowania mniejszy [11].

Teoria zwilżania

Teoria zwilżania ma zastosowanie głównie do płynnych układów bioadhezyjnych. Opisuje zdolność polimeru bioadhezyjnego do rozprzestrzeniania się po powierzchni biologicznej [11, 20]. Za pomocą pomiaru kąta zwilżania cieczy na powierzchni tkanki z użyciem goniometru, można określić powinowactwo cieczy do powierzchni. Ogólna zasada jest taka, że im niższy kąt zwilżania, tym większe jest powinowactwo cieczy do powierzchni ciała stałego. Energia, która jest potrzebna, aby rozdzielić warstwy, opisywana jest za to przez pracę adhezji. Im powierzchnie posiadają wyższe energie w stosunku do oddziaływań powierzchniowych, tym większa praca adhezji wymagana jest, aby je rozdzielić [20].

Teoria mechaniczna

Teoria ta zakłada, że adhezja powstaje, gdy w nierównej powierzchni błony cząsteczki polimeru się „zazębiają”. Dotyczy więc ona bezpośredniego oddziaływania mechanicznego, ale nie tylko. Mowa tu również o zwiększonej powierzchni kontaktu błony z polimerem dzięki jej fałdowaniu i nierównościom, co uważa się za ważniejsze w procesie adhezji niż efekt mechaniczny [8, 20].

Metody badania mukoadhezji

W literaturze przedmiotu można odnaleźć kilka różnych metod służących do badania mukoadhezji. Są one ważne dla zbadania polimerów oraz projektowania systemów mukoadhezyjnych. Nie ma jednak jednolitej metodyki, a wyniki badań są trudne w interpretacji [24, 26]. Wyróżnić można metody *in vitro* (*ex vivo*) oraz metody *in vivo*.

Metody *in vitro/ex vivo*

Większość metod *in vitro* polega na badaniu siły mukoadhezji, czyli siły potrzebnej, aby złamać wiązanie między substancją mukoadhezyjną a modelową membraną. W zależności od tego, w którym kierunku materiał mukoadhezyjny oddzielany jest od powierzchni biologicznej, można zbadać wytrzymałość na rozciąganie, oderwanie i ścinanie [26].

Najczęściej badana jest wytrzymałość na rozciąganie, gdzie następuje pomiar siły potrzebnej do zerwania filmu z modelowej membrany [26]. Tradycyjna metoda do pomiaru siły adhezji różnych mukoadhezyjnych postaci leku to metoda płytki Wilhelmy'ego, która pozwala na otrzymanie dynamicznych kątów zwilżania. W metodzie tej wykorzystuje się mikrotensjometr oraz mikrowagę. Mierzona jest siła mukoadhezji między błoną śluzową a filmem przymocowanym do metalowego drutu, zawieszonym w mikrotensjometrze. Do najczęściej stosowanych metod pomiaru wytrzymałości na rozciąganie filmu mukoadhezyjnego należą te z użyciem różnych modyfikacji tensjometru. W najnowszych badaniach do przeprowadzenia pomiarów używa się jednak zazwyczaj analizatora tekstury [27].

W teście badającym wytrzymałość na oderwanie mierzy się siłę wymaganą do oderwania filmu styknie od modelowej membrany poprzez zdzieranie. Korzysta się z odważników, które obciążają krawędź filmu i umożliwiają jego oderwanie [25, 26].

Badania siły ścinania polegają na pomiarach siły, która powoduje przesuwanie się filmu

po warstwie śluzowej w kierunku równoległym do ich powierzchni styku. W tego typu testach śluz tworzy cienką warstwę pomiędzy dwoma szkiełkami powleczonymi polimerem, a test mierzy siłę potrzebną do rozdzielania tych dwóch powierzchni [22].

Metody reologiczne opierają się na zmianach, jakie zachodzą we właściwościach reologicznych badanych żeli mukoadhezyjnych podczas etapu przenikania w procesie bioadhezji. Zmiany te powodowane są przeplataniem się łańcuchów polimeru i mucyny, przekształceniami konformacji oraz interakcjami chemicznymi, które pomiędzy nimi zachodzą [22].

Metoda barwienia złotem koloidalnym wykorzystuje koniugaty mucyny i złota koloidalnego. W wyniku kontaktu z koniugatami, powierzchnia hydrożelu mukoadhezyjnego zabarwia się na czerwono. Interakcję tą można zmierzyć ilościowo poprzez pomiar intensywności czerwonej barwy bądź pomiar spadku stężenia koniugatów uzyskany ze zmian absorpcji przy długości fali 525 nm [24].

Metoda sondy fluorescencyjnej polega na badaniu interakcji polimeru z błoną komórkową nabłonka z użyciem sondy fluorescencyjnej (izotiocyjanian pirenu i fluoresceiny), którą znakuje się błonę lipidową i białka błonowe. Następnie komórki nabłonka miesza się z polimerem i obserwuje zmiany w widmach fluorescencji [22].

W badaniach nad mukoadhezją wykorzystana może być również mikroskopia sił atomowych. Metoda ta daje możliwość wykonania zdjęć powierzchni badanego materiału przy rozdzielczości do jednego atomu. Pozwala zarejestrować wiązania wodorowe między mucyną a polimerem, a według teorii adsorpcyjnej można dzięki temu potwierdzić istnienie sił mukoadhezyjnych pomiędzy materiałami. Po wykonaniu zdjęć, następuje ocena zdolności mukoadhezyjnych polimeru poprzez porównanie ilości zaadsorbowanych cząstek polimeru z tymi, które nie zostały zaadsorbowane.

Także elipsometria daje możliwość oceny mukoadhezji. W metodzie elipsometrycznej wykorzystane zostaje zjawisko polegające na zmianie współczynnika załamania światła, które jest efektem adsorpcji polimeru na powierzchni warstwy mucyny [23].

Istnieje też metoda, która wykorzystuje pomiar przewodnictwa elektrycznego. Używa się w niej wiskozymetru rotacyjnego zdolnego do pomiarów przewodnictwa. W kontakcie z materiałem bioadhezyjnym przewodnictwo jest bardzo niskie, natomiast gdy kontakt zostaje zerwany, przewodnictwo rośnie aż do wartości

Rycina 1. Różne siły oceniane w testach mukoadhezji.

Figure 1. Different forces assessed in mucoadhesion tests.

mierzonych dla śliny, co wskazuje na brak adhezji [24].

Wśród innych metod służących badaniom mukoadhezji wymienić można m.in. takie metody, jak:

- metoda ciężaru adhezyjnego;
- test kciuka;
- mechaniczna metoda spektroskopowa;
- metoda kanału przepływowego.

Metody *in vivo*

Niewiele jest metod badania właściwości mukoadhezyjnych *in vivo* [24, 26]. Wyróżnia się pomiar czasu przejścia przez przewód pokarmowy z użyciem markerów radioceniujących oraz pomiar z użyciem gamma-scyntygrafii. Pierwszy ze sposobów jest metodą nieinwazyjną, w której system mukoadhezyjny znaczą się markerami radioizotopowymi i śledzi sygnał z przewodu pokarmowego za pomocą promieni rentgenowskich. Dzieje się to bez wpływu na motorykę przewodu pokarmowego [26]. Druga z metod jest również nieinwazyjna i cenna dla rozwoju różnych postaci farmaceutycznych. Pozwala na obserwację przejścia systemu mukoadhezyjnego przez przewód pokarmowy. Dostarcza informacji na temat czasu i miejsca rozpadu postaci leku, miejsca absorpcji, a także wpływu różnych czynników, tj. przyjętego pokarmu, występujących stanów chorobowych, rozmiaru postaci leku na jej działanie *in vivo* [22].

Polimery stosowane w technologii wytwarzania filmu

Rozwój teorii mukoadhezji i mukoadhezyjnych postaci leku wiąże się z badaniem wielu polimerów i ich mieszanin pod kątem właściwości adhezyjnych. Polimery to łańcuchy składające się z monomerów połączonych wiązaniami kowalencyjnymi. Różnice między monomerami mogą wpływać m.in. na rozpuszczalność, wytrzymałość i elastyczność. Polimery mukoadhezyjne powinny charakteryzować się hydrofilowością, elastycznością, odpowiednimi właściwościami lepkościowymi oraz licznymi grupami chemicznymi zdolnymi do tworzenia wiązań wodorowych (m.in. grupa hydroksylowa, karboksylowa, amidowa) [19]. Hydrofilowość polimeru w stanie suchym powoduje, że wchłania on wodę z powierzchni śluzu, w wyniku czego powstaje lepki płyn, który wydłuża czas trwania adhezji i sprzyja dalszym interakcjom. Dochodzi do splątania łańcuchów polimeru z łańcuchami mucyny. Tworzą się wiązania wodorowe, oddziaływania hydrofobowe i Van der Waalsa, oddziaływania elektrostatyczne, wiązania kowalencyjne,

a w przypadku należących do drugiej generacji lektyn – zachodzi rozpoznawanie określonych ligandów (reszt cukrowych) [7].

Niektórzy autorzy wymieniają następujące cechy idealnego polimeru mukoadhezyjnego [7, 19, 22]:

- nietoksyczny, niedrażniący, nie zawiera zanieczyszczeń podlegających wymywaniu;
- wykazuje właściwości bioadhezyjne, będąc w stanie stałym, jak i ciekłym;
- ma dobrą rozpuszczalność, smarowalność, biodegradowalność, zwilżalność i zdolność do pęcznienia;
- szybko przylega do błony śluzowej i posiada wystarczającą wytrzymałość mechaniczną;
- ma optymalną masę cząsteczkową;
- wykazuje dostateczne usieciowanie;
- charakteryzuje się biokompatybilnym pH i dobrymi właściwościami lepkościowymi;
- ma dobrą wytrzymałość na ścinanie, rozciąganie i odrywanie;
- wykazuje właściwości hamujące enzymy lokalne i zwiększające przenikanie;
- ma minimalny wpływ na uwalnianie leku;
- może być łatwo zastosowany w różnych postaciach leku;
- nie powoduje wtórnych zakażeń w obrębie jamy ustnej, np. próchnicy;
- jest łatwo dostępny i tani; ma akceptowalny okres trwałości,
- ma wymaganą konformację przestrzenną i grupy aktywne adhezyjne;
- nie jest gorzki, powinien być bezsmakowy; ;
- jest odporny na warunki hydrodynamiczne, zmiany pH, obecność pożywienia.

Głównymi kryteriami stosowanymi do klasyfikacji polimerów mukoadhezyjnych są pochodzenie, ładunek i rozpuszczalność w wodzie. Podział ze względu na pochodzenie uwzględnia polimery naturalne, półsyntetyczne i syntetyczne. Do naturalnych polimerów mukoadhezyjnych zaliczyć można m.in. alginian sodu, gumę guar oraz ksantanową, agarozę, pektynę, kwas hialuronowy i żelatynę. Wśród polimerów półsyntetycznych wymienia się na przykład chitozan oraz pochodne celulozy, tj. hydroksypropylo-metylocelulozę (HPMC), karboksymetylocelulozę (CMC), metylocelulozę (MC). Do najczęściej stosowanych polimerów syntetycznych należą natomiast pochodne kwasu akrylowego, czyli m.in. karbomer oraz polikarbofil. Podział uwzględniający ładunek polimeru obejmuje polimery kationowe, anionowe oraz neutralne. Do kationowych polimerów o właściwościach mukoadhezyjnych należą chitozan oraz dekstran, a do anionowych m.in. CMC, alginian sodu, kwas poliakrylowy oraz poliakrylany. Przykładami polimerów

neutralnych są natomiast alkohol poliwinylowy (PVA), poliwinylolipirolidon (PVP), politlenek etylenu (PEG), HPMC, MC [19].

Wymienione powyżej polimery należą do tak zwanej „pierwszej generacji”. Istnieje także „druga generacja” polimerów mukoadhezyjnych. Mają one zdolność tworzenia silniejszych wiązań chemicznych ze śluzem, także kowalencyjnych, zamiast niespecyficznych wiązań charakterystycznych dla polimerów pierwszej generacji. Mogą także reagować specyficznie za pomocą receptorów. Stwarzają one możliwości ulepszonych, bardziej ukierunkowanego dostarczania substancji leczniczych [7]. Należą tu polimery tiolowane, lektyny [7, 19], rozpuszczalne w wodzie żywice PolyoxTM (7). Polimery tiolowane są ulepszonymi pochodnymi polimerów pierwszej generacji, np. karbomeru lub chitozanu, które w szkieletcie polimerowym zawierają wolne grupy tiolowe. Grupy te zdolne są do tworzenia wiązań disiarczkowych z resztami cysteinowymi glikoprotein śluzu [19]. Obecność grup tiolowych wydłuża czas przebywania w miejscu podania filmu [7]. Lektyny to naturalnie występujące białka, które mają zdolność silnego i specyficznego wiązania z resztami węglowodanowymi błony komórkowej. Mogą one wydłużać czas przebywania postaci leku w miejscu aplikacji [19]. Pozwalają na specyficzne i kontrolowane dostarczanie leku. Chociaż mają one wiele zalet, jedną z ich wad jest jednak immunogenność. Rozpuszczalne w wodzie żywice PolyoxTM to polimery o dużej masie cząsteczkowej i hydrofilowym charakterze, zdolne do tworzenia wiązań wodorowych. Są biokompatybilne, nietoksyczne i mogą wchodzić w skład filmów, żeli, tabletek, mikrokapsulek, a także syropów [7].

Metody wytwarzania filmów

Wśród metod wytwarzania filmów wyróżnić można: [6]

- metodę wylewania;
- metodę ekstruzji topliwej;
- metodę wytwarzania półstałych odlewów;
- metodę prasowania;
- metodę ekstruzji stałych dyspersji;
- metody z użyciem drukarek [3, 29].

Metoda wylewania jest najpopularniejszą metodą wytwarzania filmów mukoadhezyjnych, ze względu na relatywnie niski koszt i prostotę procesu. Może być z powodzeniem stosowana w skali laboratoryjnej. Polimer, substancje pomocnicze (np. plastyfikatory, związki poprawiające smak, konserwanty, substancje poprawiające przepuszczalność) [7] oraz API rozpuszczane są w wodzie lub odpowiednim rozpuszczalniku

organicznym i mieszane do uzyskania homogennego roztworu. Roztwór odpowietrza się, a następnie odpowiednia jego ilość zostaje wylana do przygotowanej formy, którą może być np. płytka Petri’ego. Gotowe filmy zostają zdjęte z form, cięte na pożądaną wielkości fragmenty i szczelnie pakowane [2]. Metoda ta jest szczególnie odpowiednia dla substancji termowrażliwych, ponieważ nie wymaga użycia wysokich temperatur do procesu odparowania rozpuszczalnika, w odróżnieniu od metody ekstruzji topliwej [3]. Jej wadami są natomiast dłuższy czas trwania i użycie rozpuszczalników organicznych, co nie jest bezpieczne dla środowiska.

W metodzie ekstruzji topliwej mieszanina składników (w tym API) w stanie suchym ładowana jest do ekstrudera przez lej. Następuje mieszanie, mielenie i ugniatanie masy, która poddawana jest procesowi ogrzewania i w stanie stopionym wytłaczana przez dyszę [16]. Ponieważ API poddawane są tu działaniu wysokiej temperatury przy braku rozpuszczalników, metoda ta nie sprawdza się dla substancji termolabilnych. Podczas spadku temperatury może dojść do rekrytalizacji API w mieszaninie polimerów. Można temu jednak zapobiegać, np. przez zwiększenie ilości plastifikatora bądź zastosowanie polimeru charakteryzującego się wyższą lepkością [29]. Do zalet ekstruzji topliwej zaliczyć można brak użycia rozpuszczalników organicznych, możliwość pracy w systemie ciągłym, małe straty produktu, dobrą kontrolę parametrów roboczych oraz możliwość zwiększenia skali [16].

Metoda wytwarzania półstałych odlewów jest jedną z rzadziej wykorzystywanych w produkcji filmów mukoadhezyjnych. Obejmuje wytworzenie roztworu nierozpuszczalnego w wodzie polimeru kwasowego, np. octanoftalanu celulozy z użyciem wodorotlenku sodu bądź amonu, a następnie przygotowanie roztworu polimeru rozpuszczalnego w wodzie (stosunek polimerów rozpuszczalnych do nierozpuszczalnych w wodzie powinien wynieść 4: 1). Roztwory łączy się i dodany zostaje plastifikator. Po wymieszaniu w celu uzyskania homogennej masy żelowej, następuje etap wylewania w warunkach kontrolowanej temperatury [30].

W metodzie walcowania przygotowuje się zawiesinę API, w której rozpuszczalnikiem jest głównie woda bądź mieszanina wody z alkoholem. Zawiesina nawijana jest na nośnik i suszona na rolkach, a następnie cięta na fragmenty o pożądanym rozmiarze i pakowana [2, 30].

Metoda ekstruzji stałych dyspersji polega na rozproszeniu API w obojętnym nośniku w stanie stałym w obecności bezpostaciowych hydrofilowych polimerów. Lek rozpuszcza się w ciekłym

rozpuszczalniku, a powstały roztwór wprowadza się do stopionego glikolu polietylenowego w temperaturze poniżej 70°C. Za pomocą matryc stałe dyspersje są formowane w filmy [2].

W ostatnich latach wzrosło zainteresowanie metodami otrzymywania filmów z użyciem drukarek 3D. Dają one możliwość stworzenia postaci leku dopasowanej do potrzeb indywidualnego pacjenta. W produkcji filmów zastosowanie znajdują technologia atramentowa i fleksograficzna, a także ich połączenie. Niezależnie od zastosowanej techniki, proces drukowania umożliwia bezpieczne wytworzenie filmu zawierającego silny lek w niskiej dawce. Na etapie przygotowania tuszu API ulega rozpuszczeniu bądź rozproszeniu w rozpuszczalniku. Po zadziałaniu impulsu cieplnego, tusz zostaje wyrzucony z wkładu, przechodząc przez dyszę i kropelki osadzają się na podłożu [29].

Metody badania filmów

Badanie masy filmu

Dla zbadania średniej masy wybierane są trzy fragmenty filmu z danej formulacji o identycznej wielkości, np. 2 cm x 2 cm [6] lub 1 cm na 1 cm [17]. Fragmenty te ważone są na wadze cyfrowej, a z otrzymanych wyników oblicza się średnią arytmetyczną.

Pomiar grubości filmu

Pomiary grubości filmu wykonuje się z użyciem elektronicznego mikrometru cyfrowego, suwmiarki cyfrowej z noniusem albo mikrometrycznego miernika śrubowego w różnych miejscach filmu (co najmniej trzech) [13]. Dokładność używanych przyrządów powinna wynosić co najmniej 0,01 mm. Z uzyskanych wyników oblicza się średnią arytmetyczną [17]. Grubość filmu podpołączkowego powinna zawierać się w przedziale od 50 do 1000 µm [10, 29]

Badanie pH

W celu określenia pH powierzchniowego, trzy filmy z danej formulacji traktuje się 1 ml wody destylowanej. Następnie do powierzchni przykładana jest elektroda szklana (można też użyć papierka wskaźnikowego) i utrzymywana jest tam przez minutę. Zapisuje się średni wynik z trzech pomiarów [17].

Indeks pęcznienia

Po zważeniu i zmierzeniu, próbka filmu umieszczana jest do spęcznienia na powierzchni płytki agarowej w inkubatorze w temperaturze 37 ± 0,2°C. Następnie, w różnych odstępach czasu

zapisuje się masę filmu. Indeks pęcznienia [%] wyznaczany jest za pomocą poniższego wzoru [16]:

$$\text{index pęcznienia} = \left[\frac{X_t - X_0}{X_0} \right] \times 100\%$$

gdzie:

X_t – masa spęczniałego filmu po czasie t ,

X_0 – masa filmu przed spęcznieniem.

Wchłanianie wilgoci

Zważoną próbkę filmu przechowuje się w eksykatorze w temperaturze pokojowej przez 24 h. Po tym czasie próbkę wyjmuje się i wystawia na działanie 84% wilgotności względnej, uzyskanej przy użyciu nasyczonego roztworu chlorku potasu w eksykatorze, aż do uzyskania stałej masy. Procentowe wchłanianie wilgoci obliczane jest za pomocą wzoru opisanego poniżej [16]:

$$\begin{aligned} \text{wchłanianie wilgoci} &= \\ &= \left[\frac{\text{masa ostateczna} - \text{masa początkowa}}{\text{masa początkowa}} \right] \times 100\% \end{aligned}$$

Niskie wchłanianie wilgoci sprawia, że hydrolytyczny rozkład filmu jest wolniejszy, a więc stabilność większa [2].

Procentowa zawartość wilgoci

Aby obliczyć procentową zawartość wilgoci w filmie, oznacza się masę próbki filmu przed umieszczeniem w eksykatorze zawierającym bezwodny chlorek wapnia oraz po upływie określonego czasu, np. 24 h. Badanie prowadzone jest w temperaturze pokojowej. Procentową zawartość wilgoci oblicza się z użyciem poniższego wzoru [13]:

$$\begin{aligned} \text{zawartość wilgoci} &= \\ &= \left[\frac{\text{masa początkowa} - \text{masa końcowa}}{\text{masa końcowa}} \right] \times 100\% \end{aligned}$$

Charakterystyka powierzchni

Obserwacja powierzchni próbki dostarcza informacji o tym, czy lek rozmieszczony jest w filmie równomiernie oraz czy nie doszło do kryształizacji API lub interakcji z polimerem. Wykorzystuje się w tym celu najczęściej SEM, ale także skaningową mikroskopię tunelową. Z pomocą SEM obserwowane są: liczba, rozmiar oraz kształt porów na powierzchni filmu. Zazwyczaj porównuje się mikrofotografię filmu zawierającego API z filmem placebo [13, 16].

Badanie organoleptyczne

Służy ocenie zapachu, smaku i koloru filmu, aby uzyskać ich akceptację przez pacjenta. W tym celu może zostać użyta specjalnie zaprojektowana aparatura zawierająca czujniki smaku [16].

Dzięki badaniu organoleptycznemu można określić konieczność zastosowania substancji maskującej np. gorzki smak leku.

Badanie stabilności chemicznej

Przeprowadzane są badania zgodności chemicznej, w celu znalezienia wszystkich możliwych interakcji pomiędzy składnikami filmu. Wykorzystywana jest do tego skaningowa kalorymetria różnicowa, dyfrakcja rentgenowska, mikrospektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera [13].

Badanie czasu rozpadu

Czas rozpadu filmu może być badany na kilka sposobów. Na przykład przy użyciu termostatuwanego aparatu do badania czasu rozpadu różnych form leku, który wyposażono w specjalne uchwyty na próbki filmów. Innym sposobem jest przygotowanie płytki Petri'ego wypełnionej 2 cm³ wody destylowanej i umieszczeniu na jej powierzchni próbki filmu. Naczynie wkłada się do wytrząsarki laboratoryjnej i obraca ze stałą prędkością, aż do całkowitego rozpadu próbki [31]. Badanie to może być również przeprowadzone w zlewkach ustawionych na łaźni wodnej (temp. 37 ± 0,5°) z uwzględnieniem mieszania bądź statycznie. W badaniu tym mierzy się czas potrzebny do całkowitego rozpadu filmu po kontakcie z wodą/śliną tak, aby okiem nieuzbrojonym nie można było dostrzec żadnych jego fragmentów.

Wytrzymałość na zginanie

Wytrzymałość na zginanie służy do obserwowania elastyczności, która jest ważną właściwością filmu. Bada się ją poprzez wielokrotne zginanie próbki filmu w tym samym miejscu aż do jej złamania. Wartość wytrzymałości na zginanie określona jest przez liczbę zgięć możliwą do wykonania, która nie powoduje przerwania filmu [13].

Wytrzymałość na rozciąganie i procent wydłużenia przy zerwaniu

W celu określenia wytrzymałości filmu na rozciąganie może zostać użyty analizator tekstury wyposażony w specjalne przystawki. Prostokątna próbka badanego filmu mocowana jest pomiędzy dwoma uchwytami ogniw obciążnikowych, z których dolny jest nieruchomy, a górny porusza się z określoną szybkością, doprowadzając do rozciągnięcia i przerwania próbki. Program komputerowy odczytuje siłę potrzebną do zerwania filmu oraz dystans przebyty przez górny uchwyt. Następnie oblicza się siłę zerwania oraz wydłużenie przy zerwaniu i używa się w tym celu poniższych wzorów [2, 15, 32]:

$$\begin{aligned} \text{siła zerwania} \left[\frac{\text{kg}}{\text{mm}^2} \right] &= \\ &= \frac{\text{siła przy zerwaniu} [\text{kg}]}{\text{pole przekroju poprzecznego próbki} [\text{mm}^2]} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{wydłużenie przy zerwaniu} [\%] &= \\ &= \frac{\text{przebyta odległość} [\text{mm}]}{\text{początkowa długość próbki} [\text{mm}]} \times 100\% \end{aligned}$$

Jednolitość zawartości API

W celu zbadania jednolitości zawartości API w różnych fragmentach filmu przygotowuje się próbki jednakowej wielkości np. 1 × 1 cm, które następnie rozpuszcza się w 50 cm³ sztucznej śliny. Następnie należy zastosować filtrację, w celu usunięcia nierozpuszczalnych pozostałości. 1 cm³ filtratu dopełnia się do 10 cm³ roztworem sztucznej śliny, a następnie mierzy się absorbancję przy długości fali określonej farmakopealnie dla danej substancji czynnej z użyciem spektrofotometru UV [2].

Badanie uwalniania API

Badanie to polega na pomiarze ilości API, jaka została uwolniona do płynu biologicznego w określonych jednostkach czasu i warunkach. Ilość i rodzaj płynu biologicznego dobierane są do danej substancji czynnej i formulacji. Dokonuje się pomiaru absorbancji przy charakterystycznej dla danej API długości fali i uzyskuje ilości uwolnionej substancji.

Warunki przeprowadzania badania uwalniania API z filmu zależą m.in. od właściwości fizykochemicznych użytych składników oraz morfologii próbki. Istotne znaczenie mają pH oraz temperatura, ponieważ mogą zwiększyć bądź zmniejszyć stopień erozji próbki, a w konsekwencji uwalnianie. Ważne są też m.in. struktura polimeru oraz typ plastifikatora użytego w formulacji.

Zazwyczaj w badaniu tym używa się aparatu do badania uwalniania zatwierdzonego dla stałych postaci leku. Możliwe jest także wykorzystanie komory dyfuzyjnej Franza. Wielu badaczy dokonuje jednak modyfikacji metody, aby dopasować ją do swojej formulacji. Jednym z problemów przy badaniu uwalniania API z filmów jest odpowiednie umieszczenie próbki. Dlatego niektórzy badacze przymocowują badaną próbkę do mieszadła bądź ściany naczynia za pomocą taśmy. Możliwe są także inne modyfikacje [29].

Analizatory tekstury – możliwości wykorzystania w badaniach filmów polimerowych

Tekstura to szereg powiązanych ze sobą cech fizycznych ciała, które wynikają z jego struktury [33]. Jest więc wielowymiarowa [34] i należy

do właściwości mechanicznych oraz reologicznych [33].

Pomiary tekstury służą badaniu właściwości mechanicznych ciał stałych i cieczy. Pozwalają w sposób obiektywny porównać cechy, które zwykle określane są za pomocą zmysłów, subiektywnie (np. twardość, kleistość), a także wysunąć wnioski dotyczące składu badanych próbek i procesów, które w nich zachodzą [33]. Teksturę można badać organoleptycznie, za pomocą ludzkich zmysłów. Należy w tym celu wyszkolić pracowników, którzy będą mieli za zadanie oceniać parametry tekstury. Wyniki uzyskane nawet przez bardzo dobrze wykształconego badacza zależne są od jego stanu psychofizycznego. Dlatego też są subiektywne. Testy instrumentalne, czyli z użyciem aparatury pomiarowej są tańsze, ponieważ nie wymagają przeprowadzania intensywnych szkoleń personelu. Są przy tym szybsze i można dzięki nim otrzymać informacje o wielu parametrach tekstury jednocześnie. Stanowią uzupełnienie testów sensorycznych. Natomiast wyniki dzięki nim uzyskane są bardziej powtarzalne [34,35].

Badania właściwości teksturometrycznych mają charakter względny. Wymagane jest dopracowanie odpowiedniej techniki pomiarowej z uwzględnieniem celu, jaki badacz chce uzyskać. Celem mogą być wyniki bliższe tym uzyskiwanym w badaniach sensorycznych (przeprowadzanych za pomocą zmysłów). Ich otrzymanie wymaga użycia bardziej skomplikowanych, często zmodyfikowanych akcesoriów, które imitują proces badania sensorycznego. Metody, w których są uzyskiwane, nazywane są imitacyjnymi. Alternatywą są pomiary empiryczne z użyciem prostszych akcesoriów i metod, nie oddające tak dobrze warunków pomiarów sensorycznych, ale umożliwiające otrzymanie porównywalnych wyników. Badanie właściwości tekstury wymaga, jeżeli to możliwe, standaryzacji jak największej liczby zmiennych, które mogą w niekontrolowany sposób wpłynąć na wyniki. W celu uzyskania porównywalnych, wiarygodnych wyników należy więc wziąć pod uwagę wymiary, powierzchnię, kształt użytych próbek, ich temperaturę, czas i warunki przechowywania, sposób przygotowania. Ważne są m.in. mocowanie próbki oraz wymiary ewentualnego naczynia, które ją zawiera, a także zmienne instrumentalne, a więc związane z aparaturą i metodyką badawczą. Należą do nich: obciążenie kontaktowe, szybkość wykonywania testu, kształt, wielkość sondy oraz dystans przez nią przebyty [33].

Podstawą standardowego analizatora tekstury jest korpus wyposażony w ruchomą głowicę, która porusza się w osi pionowej. W zależności od producenta teksturometru i modelu może

się ona poruszać na drodze o różnej długości. W przypadku modelu TMS-Pro produkcji Food Technology Corporation maksymalna odległość wynosi 300 mm [34]. W modelu Brookfield Ametek CT3 jest to tylko 101,6 mm. Shimatzu EZ-LX oraz EZ-LX HS oferują za to maksymalne długości wynoszące aż 920 mm [38]. Głowica może zostać ustawiona bardzo starannie z dokładnością rzędu aż 0,01 mm, np. w modelu Brookfield Ametek CTX [37]. Różny jest też zakres prędkości poruszania się głowicy. W przypadku TMS-Pro maksymalna prędkość wynosi 500 mm/min, w Brookfield Ametek CTX jest to aż 2400 mm/min. W zależności od modelu teksturometru i doboru tensometru możliwe jest też różne maksymalne obciążenie. W Brookfield Ametek CTX wynosi ono 980 N, ale w Shimatzu EZ-LX to aż 5kN.

W celu wykonania pomiarów z użyciem analizatora tekstury, należy go wyposażać w odpowiednią sondę bądź akcesorium. Producenci oferują szeroki ich wybór, który pozwala przeprowadzić wiele badań. Kreatywność badaczy umożliwia też modyfikacje istniejących przystawek, w celu dopasowania aparatury do potrzeb konkretnych eksperymentów [33].

W zależności od wybranych nakładek montowanych na głowicy, możliwe jest przeprowadzenie różnorodnych testów. Realne są testy, w których powstają siły rozciągające (rozciąganie i zrywanie próbek), ale również siły ściskające (zgniatanie, mielenie, cięcie, przeciskanie, penetracja, przekłuwanie próbek). Nasadki mogą działać na całą powierzchnię próbki bądź punktowo [35].

W gamie sond i akcesoriów wyróżnić można: sondy cylindryczne, sferyczne, stożkowe, noże ścinające, komory i płyty kompresyjne (np. komora Ottawa), łamacze, uchwyty nawijające, uchwyty do zrywania, wielopunktowe przystawki kompresyjne i penetracyjne, przystawki adhezyjne, uchwyty imadłowe, testery tarcia. Są też specjalnie skonstruowane akcesoria do konkretnych rodzajów produktów, np. do badania strzykawek lub inhalatorów [36, 38].

Teksturometry połączone są z dedykowanymi programami komputerowymi, które rejestrują sygnały z analizatora i przekształcają je na dane numeryczne [57]. Oprogramowanie pozwala na archiwizowanie danych, porównywanie uzyskanych wyników, obliczanie bardziej zaawansowanych parametrów. Umożliwia też opracowywanie danych testowo i graficznie oraz ich eksportowanie [36].

Jednym z najpopularniejszych testów wykonywanych z pomocą analizatora tekstury jest TPA, czyli analiza profilu tekstury. W jej trakcie próbka zostaje poddana dwukrotnej kompresji, podczas której zostają zarejestrowane siła i odległość. Do

Rycina 2. Teoretyczna krzywa zależności siły od czasu uzyskana w teście TPA.

Figure 2. The theoretical force-time curve obtained in the test TPA.

Rycina 3. Przykładowy wykres zależności siły od przesunięcia uzyskany w badaniu wytrzymałości filmu na przebijanie.

Figure 3. An exemplary force-displacement curve obtained in the film puncture strength's test.

zalet testu należą przede wszystkim szybkość oraz możliwość jednoczesnego uzyskania informacji o pierwotnych i wtórnych parametrach tekstury. Ważne jest, aby próbki użyte do przeprowadzenia pomiarów były do siebie jak najbardziej zbliżone pod względem wymiarów. Jest to związane z dużą czułością przetworników siły używanych w badaniu. Nawet najmniejsze różnice między próbkami powodują odchylenia w uzyskiwanych wynikach [34].

Bazując na zależności siły od czasu, można odczytać kilka parametrów. Są to m.in. twardość, adhezyjność i kohezyjność [39]. Twardość to siła potrzebna do uzyskania określonego odkształcenia lub penetracji w głąb próbki. Wyrażana jest

w niutonach [N], a na **rycinie 2** widoczna jest jako najwyższy pik w pierwszym cyklu kompresji (P). Adhezyjność wyraża pracę w dżulach [J] potrzebną do oderwania próbki od sondy. Jest to iloczyn siły niezbędnej do wyciągnięcia sondy z próbki i czasu wyciągania. Na **rycinie 2** widoczna jest jako pole powierzchni pod ujemnym pikiem (III), gdy sonda wycofuje się po pierwszym cyklu kompresji. Wyższa wartość adhezyjności oznacza lepszą przylegalność próbki. Kohezyjność natomiast jest stosunkiem pracy wykonanej podczas drugiego cyklu kompresji do pracy w cyklu pierwszym. Wartości zawierają się w przedziale od 0 do 1. Im bliższe są jedności, tym lepszą spójnością charakteryzuje się badana próbka. Jest to stosunek pola pod pikiem w drugim cyklu kompresji (II) do pola pod pikiem w cyklu pierwszym (I).

Analizator tekstury pozwala badać różne postaci leku, także filmy mukoadhezyjne. Z jego pomocą można m.in. poznać parametry adhezji i kohezji badanych filmów, ich twardość i elastyczność, zbadać mukoadhezję. Badania te są niezwykle cenne w rozwoju postaci leku, jaką jest film mukoadhezyjny.

W celu scharakteryzowania wytrzymałości mechanicznej filmu polimerowego można przeprowadzić z użyciem analizatora tekstury test polegający na pomiarze siły potrzebnej do przebijania próbki. W metodzie tej teksturometr zostaje wyposażony w specjalny uchwyt, w którym badaną próbkę mocuje się między dwiema płytkami z okrągłym otworem pośrodku. Próbka musi zostać przygotowana w taki sposób, by jej średnica była większa niż średnica wspomnianego otworu. W celu uniknięcia poruszania się i wysuwania filmu z uchwytu, próbka jest w nim mocowana za pomocą śrub. Głowica zaopatrzona w sondę zakończoną kulą ustawiana jest w odpowiedniej pozycji, a pomiar rozpoczyna się, gdy dojdzie do jej zetknięcia z próbką. Ruch głowicy przebiega z określoną, stałą szybkością aż do momentu przebijania próbki. Analizator w tym czasie rejestruje siłę, która potrzebna jest do przebijania i przemieszczenia sondy, a połączony z aparaturą program komputerowy przetwarza wyniki i rysuje wykres zależności siły [N] od przesunięcia [mm] [29]. Przykładowy wykres uzyskany w programie TRAPEZIUM X połączonym z analizatorem tekstury Shimadzu EZ-SX przedstawiony został na **rycinie 3**.

Na wyniki testu wytrzymałości na przebijanie wpływ ma wiele czynników. Są to przede wszystkim: czas kontaktu sondy z próbką, siła nacisku oraz prędkość jej poruszania się. Ważne są też odpowiednia temperatura i wilgotność w pomieszczeniu, w którym pomiary są wykonywane [29].

Piśmiennictwo

- Singh A, U. K. S. K. Prajapati UKSSK. A review on Mucoadhesive Buccal Patches. *Int. J. Res. Dev. Pharm. Life Sci.* 2017; 6(4): 2654–2660.
- Niyati AP, Dhiren PS, Tejas JP. A novel approach for buccal drug delivery system- buccal film. *An Int. J. Pharm. Sci.* 2016; 7(2): 166–183.
- Montenegro-Nicolini M, Morales JO. Overview and Future Potential of Buccal Mucoadhesive Films as Drug Delivery Systems for Biologics. *AAPS PharmSciTech.* 2017; 18(1): 3–14.
- Paderni C, Compilato D, Giannola LI, Campisi G. Oral local drug delivery and new perspectives in oral drug formulation. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol.* 2012; 114(3): e25–e34.
- Campisi G, Paderni C, Saccone R, Fede O, Wolff A, Giannola L. Human Buccal Mucosa as an Innovative Site of Drug Delivery. *Curr. Pharm. Des.* 2010; 16(6): 641–652.
- Gandhi RB, Robinson JR. Oral cavity as a site for bioadhesive drug delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 1994; 13(1–2): 43–74.
- Manohar SD, Sridhar DA, Mallikarjuna SC. Drug delivery from the oral cavity: A focus on mucoadhesive buccal drug delivery systems. *J. Pharm. Sci. Technol.* 2012; 66(5): 466–500.
- Placzek M, Sznitowska M. Zjawisko mukoadhezji i jego znaczenie w aplikacji leku. *Polim. Med.* 2009; 39(2): 49–64.
- Nagaraju R, Subhash Chandra Bose P, Ravi G, Saritha D, Ravi V. A Review on Current status of Buccal drug delivery system. *Res. J. Pharm. Technol.* 2020; 13(6): 2954–2962.
- Abouhusein D, Nabarawi MA, Shalaby SH, El-Bary AA. Cetylpyridinium chloride chitosan blended mucoadhesive buccal films for treatment of pediatric oral diseases. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* 2020; 57(3): 101676.
- Salamat-Miller N, Chittchang M, Johnston TP. The use of mucoadhesive polymers in buccal drug delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2005; 57(11): 1666–1691.
- Lope RJ. Development of a mucoadhesive buccal film as a carrier of Lippia graveolens oil emulsions and its *in vitro* evaluation against *Candida albicans*. CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y ASISTENCIA EN TECNOLOGÍA Y DISEÑO DEL ESTADO DE JALISCO, A.C., 2017.
- Hanif M, Zaman M, Chaurasiya V. Polymers used in buccal film: A review. *Des. Monomers Polym.* 2015; 18(2):105–111.
- Nguyen S, Hiorth M. Advanced drug delivery systems for local treatment of the oral cavity. *Ther. Deliv.* 2015; 6(5): 197–210.
- Verma S, Kumar N, Kumar Sharma P. Buccal Film: An Advance Technology for Oral Drug Delivery. *Adv. Biol. Res. (Rennes)* 2014; 8(6):260–267.
- Madhavi BR, Murthy VSN, Rani AP, Kumar GD. Buccal Film Drug Delivery System-An Innovative and Emerging Technology. *J. Mol. Pharm. Org. Process Res.* 2013; 1(3).
- Bhandari HP, Yadav J. Review on Mucoadhesive Buccal Drug Delivery. *Pharma Sci. Monit.* 2018; 9(1): 345–362.
- Garg SK, Dangi V, Chand R. Buccal Adhesive Drug Delivery System: Safer Delivery of Biotherapeutics. *J. Drug Deliv. Ther.* 2011; 1(2): 35–45.
- Landová H, Daněk Z, Gajdziok J, Vetchý D, Štembřík J. Mucoadhesive films as perspective oral dosage form. *Ceska. Slov. Farm.* 2013; 62: 4–11.
- Smart JD. The basics and underlying mechanisms of mucoadhesion. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2005; 57(11): 1556–1568.
- Verma S, Kaul M. An Overview of Buccal Drug Delivery System. *Int. J. Pharm. Res.* 2011; 2(6): 1303–1321.
- S. K. Roy and B. Prabhakar, “Bioadhesive polymeric platforms for transmucosal drug delivery systems – A review,” *Trop. J. Pharm. Res.*, vol. 9, no. 1, pp. 91–104, 2010.
- Osmalek T, Froelich A, Jadach B, Snela A, Ancukiewicz K. Znaczenie mukoadhezji w technologii farmaceutycznej. Część I. Opis zjawiska oraz techniki stosowane do jego oceny. *Farm. Współczesna* 2017; 10: 22–28.
- Ahuja A, Khar RK, Ali J. Mucoadhesive drug delivery systems. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1997; 25(3): 489–515.
- Tangri P, Satheesh Madhav NV. Oral mucoadhesive drug delivery systems: a review,” *Int. J. Biopharm.* 2011; 2(1): 36–46.
- Carvalho FC, Bruschi ML, Evangelista RC, Gremião MPD. Mucoadhesive drug delivery systems. *Brazilian J. Pharm. Sci.* 2010; 46(1): 1–17.
- Nair AB, Kumria R, Harsha S, Attimarad M, Al-Dhubiab BE, Alhaidar IA. In vitro techniques to evaluate buccal films. *J. Control. Release* 2013; 166(1): 10–21.
- Mukhopadhyay R, et al. Polymers in designing the mucoadhesive films: A comprehensive review. *Int. J. Green Pharm.* 2018; 12(2): S330–S344.
- Karki S, Kim H, Na SJ, Shin D, Jo K, Lee J. Thin films as an emerging platform for drug delivery. *Asian J. Pharm. Sci.* 2016; 11: 559–574.
- Singh CL, Srivastava N, Monga MG, Singh A. A review : Buccal mucoadhesive drug delivery system. *World J. Pharm. Sci.* 2014; 2(12): 1803–1807.
- Speer I, Steiner D, Thabet Y, Breitkreutz J, Kwade A. Comparative study on disintegration methods for oral film preparations. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2018; 132: 50–61.
- Singh S, Jain S, Muthu MS, Tiwari S, Tilak R. Preparation and evaluation of buccal bioadhesive films containing clotrimazole. *AAPS PharmSciTech.* 2008; 9(2): 660–667.
- Właściwości teksturometryczne, co to jest i jak to badać? 2020. Dostępne w internecie <https://www.laboplus.pl/wp-content/uploads/2020/04/Tekstura-co-to-jest-i-jak-to-badać.pdf>. Dostęp 2021.10.08.
- Dolik K, Kubiak MS. Instrumentalny Test Analizy Profilu Tekstury. *Nauk. Inżynierskie i Technol.* 2013; 3(10):35–44.
- Dolik K, Kubiak M, Seńcio M. Analizator do pomiaru tekstury TMS-Pro – zasada działania i zastosowanie w badaniach produktów spożywczych. *Pomiary Autom. Kontrola* 2010; 56(6): 636–639.
- Broszura z opisem analizatora tekstury AMETEK Brookfield CT3. Dostępne w internecie <https://www.laboplus.pl/wp-content/uploads/2020/03/Broszura-Analizator-Tekstury-AMETEK-Brookfield-CT3-2020.pdf>. Dostęp 2021.10.08.
- Uniwersalna Maszyna Testująca – Model Stołowy EZ Test. 2012.
- Broszura z opisem analizatora tekstury AMETEK Brookfield CTX. Dostępne w internecie <https://www.laboplus.pl/wp-content/uploads/2020/03/Broszura-Analizator-Tekstury-AMETEK-Brookfield-CTX-2020.pdf>. Dostęp 2021.10.08.
- Owczarz P, Ryl A, Wichlacz Ż. Application of texture profile analysis to investigate the mechanical properties of thermosensitive injectable chitosan hydrogels. *Prog. Chem. Appl. Chitin its Deriv.* 2019; 24: 151–163.