

Comprimidos mucoadherentes bicapa para la administración bucal de carvedilol: Estudios *in vitro* e *in vivo*

Mucoadhesive bilayer tablets for buccal delivery of carvedilol: in vitro and in vivo investigations

YEDURKAR PD*, DHIMAN MK, SAWANT KK

Drug Delivery Research Laboratory, TIFAC Center of Relevance and Excellence in NDDS, G. H. Patel Building, Pharmacy Department, Faculty of Tech. and Engg., The M. S. University of Baroda, Vadodara – 390 002, Gujarat, India.
Correo electrónico: pramodyedurkar@gmail.com

RESUMEN

Se diseñó un sistema mucoadherente bicapa de carvedilol para administración bucal, con el objetivo de mejorar la biodisponibilidad y conseguir una liberación sostenida. Como portadores se utilizaron Carbopol 934P e hidroxipropilmetilcelulosa K4M, y las formulaciones obtenidas se sometieron a estudios de pH superficial, índice de expansión y bioadhesión y liberación de fármaco *in vitro*. Se analizó la cinética de los datos de liberación de fármaco *in vitro*, mediante ajuste en modelos de orden cero, primer orden, Higuchi, Hixson-Crowell y Korsmeyer Peppas. El estudio del rendimiento farmacocinético *in vivo* del lote optimizado se realizó en conejos. Los datos obtenidos de la optimización y evaluación del sistema revelaron que las formulaciones presentaban índices de expansión y parámetros tecnológicos satisfactorios. La formulación F5 presentó el mayor grado de bioadherencia (3.5 ± 0.6 N) y su retención en la mucosa bucal porcina fue de 7 h. El ajuste al modelo de los datos de liberación *in vitro* demostró que seguían un patrón de liberación de orden cero con un comportamiento de liberación no Fickian, es decir, con valores de n entre 0.71 y 1.17, lo que indica que la liberación fue una combinación de erosión del comprimido y difusión desde la matriz. Los valores farmacocinéticos obtenidos presentaron una diferencia significativa entre C_{max} , T_{max} y los valores del área bajo la curva de las formulaciones bucal y oral, es decir, un aumento de la biodisponibilidad en los comprimidos bucales en comparación con la formulación oral. Las curvas de concentración en plasma de los comprimidos bucales evidenciaron claramente un comportamiento de liberación sostenido.

PALABRAS CLAVE: Comprimidos mucoadherentes bicapa. Carvedilol.

ABSTRACT

Mucoadhesive bilayered system of carvedilol was designed for buccal application with the objective of improving bioavailability and producing sustained release. Carbopol 934P and hydroxypropylmethylcellulose K4M were employed as carriers and the developed formulations were subjected for evaluation of surface pH, swelling index, in vitro bioadhesion and in vitro drug release studies. In vitro drug release data was analyzed for release kinetics by fitting into Zero order, First order, Higuchi, Hixson-Crowell and Korsmeyer Peppas models. In vivo pharmacokinetic performance of the optimized batch was investigated in rabbits. Data emerged from optimization and evaluation of the system revealed that formulations exhibited satisfactory technological parameters and swelling indices. Formulation F5 showed maximum bioadhesion (3.5 ± 0.6 N) and was found to be retained for 7 h on porcine buccal mucosa. The model fitting of in vitro release data demonstrated that it followed zero order release pattern with non-fickian release behavior i.e. n values ranging from 0.71 to 1.17, indicating the release was combination of tablet erosion and diffusion from the matrix. The obtained pharmacokinetic values showed significant difference between C_{max} , T_{max} and area under curve values of oral and buccal formulation, i.e. increase in bioavailability of buccal tablet as compared with oral formulation. Plasma concentration curves for the buccal tablet clearly showed evidence of sustained release behavior.

KEY WORDS: Mucoadhesive bilayer tablets. Carvedilol.

Fecha de recepción: 25-06-2007

Fecha aceptación: 28-09-2007

INTRODUCCIÓN

Se han realizado grandes esfuerzos centrados en el desarrollo de sistemas mucoadherentes para la administración de fármaco que permitan controlar de forma eficiente la administración sistémica¹. De las diversas vías mucóticas disponibles, la vía bucal ha cobrado una importancia significativa como alternativa a la vía oral y a otras vías mucóticas, debido al atractivo de sus ventajas y a sus fructíferos resultados. La superficie de la mucosa bucal para la aplicación del fármaco es mayor y más fácilmente accesible, en comparación con otras mucosas como la nasal, la rectal y la vaginal². Además, la mucosa bucal es más tolerante a posibles alérgenos debido a la rapidez de la renovación de sus células³. La absorción de los agentes terapéuticos en la cavidad oral permite su entrada directa en la circulación sistémica, evitando de esta forma el metabolismo hepático inicial⁴.

De los sistemas mucoadherentes de administración bucal en forma de pomada⁵, crema⁶, solución⁷, micropartículas⁸, comprimidos⁹ y parches¹⁰, los comprimidos parecen ser la formulación preferida. La desventaja de la mayoría de los sistemas mencionados es la facilidad con la que se eliminan por la secreción salivar continua. Los comprimidos microadherentes resultan atractivos porque se adhieren directamente a la cavidad bucal, se retienen durante períodos de tiempo más largos y se pueden retirar en cualquier momento¹¹.

Una forma de dosificación bucal ideal debería poder 1) permanecer en el lugar de adherencia durante un período determinado, 2) liberar el fármaco de forma unidireccional 2) presentar un perfil de liberación sostenido cuando sea necesario¹². Teniendo en cuenta los requisitos anteriores, en los presentes estudios se investigaron los comprimidos bicapa, ya que podrían cumplir muchos de ellos.

El carvedilol es un agente bloqueante no selectivo β -adrenérgico con actividad α_1 -bloqueante que también tiene propiedades vasodilatadoras¹³. Se utiliza en el tratamiento de la hipertensión media o moderada y la angina de pecho¹⁴. En administración oral, el carvedilol se absorbe rápida y completamente, pero su biodisponibilidad absoluta es del 25 %, debido a su elevado grado de metabolización hepática inicial¹³.

INTRODUCTION

Extensive efforts have been focused at developing mucoadhesive drug delivery systems for an efficient control of systemic delivery¹. Out of various available mucosal routes, the buccal route has gained significant importance as an alternative to oral route and other mucosal routes because of its attractive advantages and fruitful outcomes. The buccal mucosa has a larger surface area for drug application and has good accessibility as compared to other mucosae such as nasal, rectal and vaginal mucosa². In addition, the buccal mucosa is more tolerant to potential allergant because of its rapid cell turn over³. Absorption of therapeutic agents from the oral cavity provides a direct entry of such agents into the systemic circulation, thereby avoiding the first-pass hepatic metabolism⁴.

Out of developed mucoadhesive buccal delivery systems such as ointments⁵, creams⁶, solutions⁷, microparticles⁸, tablets⁹ and patches¹⁰, tablets appear to be the most preferred formulation. The disadvantage of most of these mentioned delivery systems is that they get easily washed away by the continuous salivary secretion. Mucoadhesive tablets appear attractive because they can readily adhere to buccal cavity, are retained for longer period of time and can be removed at any time¹¹.

An ideal buccal dosage form should be able to 1) remain at the adhesive site for specified period, 2) provide unidirectional release of drug 2) exhibit sustained release profile when needed¹². Considering and working on the above requirements, bilayer tablet was addressed in current investigations, which may fulfill above expectations.

Carvedilol is a nonselective β -adrenergic blocking agent with α_1 -blocking activity and it also has vasodilating properties¹³. Carvedilol is used in the treatment of mild to moderate hypertension, angina pectoris¹⁴. On oral administration, carvedilol is rapidly and extensively absorbed but has absolute bioavailability of 25% due to a significant degree of hepatic first-pass metabolism¹³.

In current investigation an attempt has been made to design bilayer buccal tablets of carvedilol with the use of mucoadhesive polymers to avoid its first pass metabolism and improve bioavailability. Additionally, the formulation was

En la presente investigación, se ha intentado diseñar un comprimido bucal bicapa de carvedilol mediante el uso de polímeros microadherentes para evitar el metabolismo inicial y aumentar la biodisponibilidad. Además, la formulación también se ha diseñado para disponer de la ventaja de la liberación sostenida de carvedilol. En la formulación desarrollada se evaluaron características microadherentes como el pH superficial, el porcentaje de % expansión y la fuerza microadherente y el perfil de liberación *in vitro*. El potencial de la formulación optimizada para aumentar la biodisponibilidad se evaluó *in vivo* en conejos.

MATERIAL

El carvedilol fue amablemente suministrado por Cipla Ltd, Mumbai, India. El carbopol 934P, (Noveon, USP) se adquirió a BF Goodrich (Cleveland OH, EE. UU.). El HPMC K4M fue suministrado por Colorcon, Mumbai, India, como muestra gratuita. La hidroxipropilcelulosa y la etilcelulosa se adquirieron a Hercules, Aqualon, EE. UU. La tabletosa 100 fue suministrada gratuitamente por Meggle, Alemania.

El resto de las sustancias químicas utilizadas fueron de grado analítico.

MÉTODOS

Formulación de comprimidos bucales bicapa

Para la formulación se utilizó la técnica de doble compresión directa¹⁵. En esta técnica, se formó la primera capa intermedia y se colocó la mezcla de la segunda capa sobre ella, comprimiéndose posteriormente para obtener el comprimido bicapa. La composición del fármaco que contenía la capa mucoadherente se muestra en la Tabla I. Para la capa de protección se utilizó una combinación fija de polímeros y excipientes [etilcelulosa (EC) - 27 mg, hidroxipropilcelulosa (HPC) - 17 mg, tabletosa 100 - 24 mg, estearato de magnesio - 2 mg]. La mezcla física de fármaco, polímeros y excipientes adecuadamente mezclados se tamizó por una malla de calibre 20 y, a continuación, se comprimió ligeramente en una máquina monocomprimidora (Jaguar, Mumbai, India) con troqueles planos de 8 mm hasta obtener un comprimido

also designed for giving advantage of sustained release of carvedilol. The developed formulation was evaluated for ideal mucoadhesive formulation characteristics such as surface pH, % swelling, *in vitro* mucoadhesive force, *in vitro* release profile. Potential of optimized formulation to improve bioavailability was evaluated *in vivo* in rabbits.

MATERIAL

Carvedilol was kindly supplied by Cipla Ltd, Mumbai, India. Carbopol 934P, (Noveon, USP) was obtained from BF Goodrich (Cleveland OH). HPMC K4M was supplied by Colorcon, Mumbai as a gift sample. Hydroxypropyl cellulose and Ethyl cellulose were obtained from Hercules, Aqualon, USA. Tablettose 100 was gifted by Meggle, Germany.

Other chemicals used were of analytical grade.

METHODS

Formulation of bilayer buccal tablets

Direct double compression technique was employed for the formulation¹⁵. In this technique, first intermediate layer was formed and second layer blend was placed on first intermediate layer and compressed to get bilayer tablet. Compositions for the drug containing mucoadhesive layer are shown in Table I. For protective layer, a fixed combination of polymers and excipients [Ethyl cellulose (EC) -27 mg, Hydroxy Propyl Cellulose (HPC) - 17 mg, Tablettose 100 -24 mg, Magnesium stearate-2 mg] were used. The physical blend of drug, polymers and excipients was properly mixed and passed through 20 mesh screen, then it was slightly compressed on single station tablet compression machine (Jaguar, Mumbai) using 8 mm flat faced punches to obtain intermediate tablet or loose compact. Similarly, blend of protective layer containing above listed excipients was mixed, sieved and compressed on the previously compressed intermediate tablet or loose compact to get bilayer tablet.

intermedio o un compactado suelto. De forma similar, se mezclaron los ingredientes de la capa de protección con los excipientes indicados anteriormente, se tamizaron y se comprimieron sobre el comprimido intermedio anterior para obtener el comprimido bicapa.

EVALUACIÓN DE LOS COMPRIMIDOS BUCALES

Parámetros tecnológicos

El diámetro y el grosor de los comprimidos formulados se midieron con un calibre Vernier. Se registró el peso total de los comprimidos.

Ensayo

El comprimido bicapa formulado se disolvió en 100 mL de tampón fosfato isotónico (pH 6.8 ± 0.2): metanol (9:1). La solución resultante se analizó espectrofotométricamente a 242 nm con espectrofotómetro UV (Shimadzu 1601) n = 5.

pH superficial

Se efectuó una medición del pH microambiental para determinar sus efectos en la mucosa bucal. En primer lugar, se humedeció la formulación añadiendo 0,5 ml de agua destilada a su superficie. Seguidamente, se registró el pH acercando un electrodo de vidrio combinado a la superficie de la formulación, dejando que se equilibrara durante 1 minuto¹⁶.

Expansión

Las muestras se pesaron antes y después de humedecerlas con saliva artificial¹⁷. Se colocó el comprimido en un vaso de precipitados de 10 ml, se añadió saliva artificial con una micropipeta y se incubó en un desecante a temperatura ambiente. Después de 10 horas, se retiró la formulación humedecida, se secó suavemente con papel secante y se volvió a pesar. El índice de expansión de la formulación humedecida se determinó de la forma siguiente¹⁸ (figura 2):

EVALUATION OF BUCCAL TABLETS

Technological parameters

The diameter and thickness of the formulated tablets were measured using Vernier Caliper. Total weight of the tablets was noted.

Assay

The formulated bilayered tablet was dissolved in 100 mL isotonic phosphate buffer (pH 6.8 ± 0.2): methanol (9:1). The resultant solution was analyzed spectrophotometrically at 242 nm by UV spectrophotometer (Shimadzu 1601) n = 5.

Surface pH

The micro environmental pH of the formulation was measured so as to determine its effect on buccal mucosa. The formulation was first allowed to get wet by adding 0.5 ml distilled water to its formulation surface. The surface pH was then recorded by bringing a combined glass electrode near the surface of the formulation and allowed it to equilibrate for 1 min¹⁶.

Swelling

Samples were weighed, before and after wetting with artificial saliva¹⁷. The tablet was placed in 10 ml beaker; artificial saliva was added onto its surface using micropipette and then incubated in dessicator at room temperature. The wetted formulation was removed after 10 hr; the surface was gently dried using blotting paper and reweighed. The swelling index of wet formulation was determined as follows,¹⁸

$$\text{Swelling index (\%)} = (\text{Wh}-\text{Wd})/\text{Wd} \times 100$$

Where,

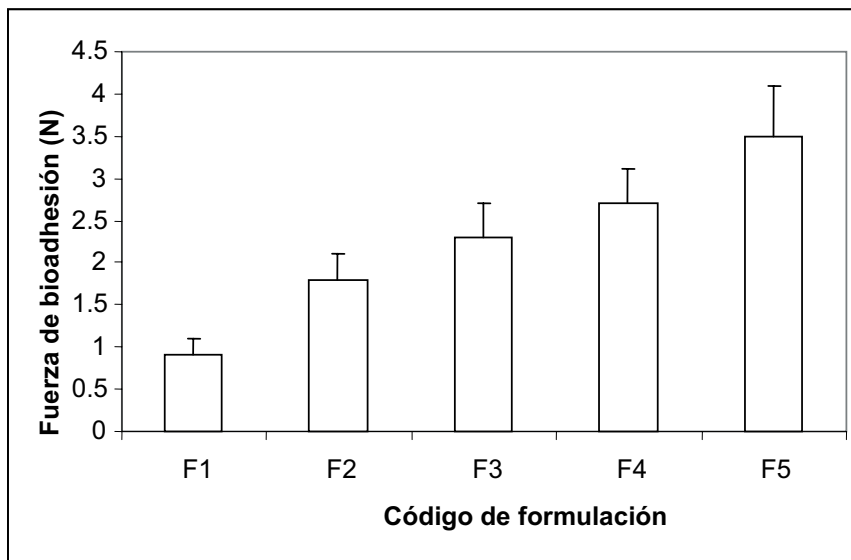
Wh = Weight of hydrated formulation

Wd = Weight of formulation (dried).

In vitro Mucoadhesion

Tensile strength tester (Instron 1121, UK) was used for measuring the in vitro mucoadhesive strength of the formulations. A tablet was

FIGURA 2. Estudios de mucoadherencia de los comprimidos bucales bicapa.
FIGURE 2. Mucoadhesion studies of bilayered buccal tablets.



Índice de expansión (%) = $(W_h - W_d) / W_d \times 100$

Donde

W_h = peso de la formulación hidratada

W_d = Peso de la formulación seca.

Mucoadherencia in vitro

Para medir la fuerza mucoadherente de las formulaciones se utilizó un medidor de fuerza tensil (Instron 1121, Reino Unido). Se colocó un comprimido en la pinza superior y se fijó una sección de la mucosa bucal (2x2 cm) a la pinza inferior utilizando un adhesivo. Se aplicó tampón fosfato pH 6.8 ± 0.2 a la superficie del comprimido para facilitar la adhesión y se pusieron en contacto ambas superficies con una fuerza de 44g. Transcurridos 10 minutos, se colocó el sistema comprimido-mucosa en el aparato de medición tensil y se estiró a velocidad constante (1 mm/min.). Se registró la fuerza de desprendimiento máxima. Se tomó la media de tres mediciones¹⁸.

Estudio de liberación in vitro

El estudio de liberación *in vitro* de los comprimidos bicapa se llevó a cabo en un equipo de disolución automatizada USP XXIV – tipo I (Electrolab, India). El medio de disolución fue

attached to the upper clamp and porcine buccal mucosal section (2x2 cm) was attached to the lower clamp using glue. For ease of adhesion, phosphate buffer pH 6.8 ± 0.2 was applied on the tablet surface and the two surfaces were brought in contact with each other with a force of 44g. After 10 min, the tablet-mucosa system was attached to the tensile strength apparatus and stretched at a constant speed (1mm/min). The maximum detachment force was recorded. The mean of three observations were taken¹⁸.

In vitro release study

The *in vitro* release study of the bilayer tablets was carried out in a USP XXIV dissolution automated apparatus – type I (Electrolab, India). The dissolution medium was 200 mL phosphate buffer, pH 6.8 ± 0.2 containing 2% sodium lauryl sulphate, maintained at 37 ± 0.5 °C. The tablet was fixed to the bottom of the vessel by a double sided tape and dissolution was carried out at 50 rpm. Filtered samples (2 mL) were automatically collected at intervals of 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 and 8 h. The samples were compensated with an equal volume of dissolution medium maintained at the same temperature. The concentration of drug released in the medium was assayed spectrophotometrically at 242 nm. The experiment was carried out in triplicate.

200 mL de tampón fosfato, pH $6,8 \pm 0,2$, con un 2% de lauril sulfato sódico, mantenida a $37 \pm 0,5$ °C. El comprimido se fijó a la parte inferior del vaso con cinta flexible de doble cara, y la disolución se realizó a 50 rpm. Se recolectaron automáticamente muestras filtradas (2 mL) a intervalos de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 y 8 h. Las muestras se compensaron con un volumen igual de medio de disolución mantenido a la misma temperatura. La concentración de fármaco liberado en el medio se estimó mediante espectrofotometría a 242 nm. El experimento se realizó por triplicado.

Los parámetros y el mecanismo de liberación de carvedilol de los comprimidos bucales se investigaron ajustando los datos a modelos de orden cero, primer orden, Higuchi, Hixson-Crowell y Korsmeyer-Peppas mediante las ecuaciones siguientes¹⁹.

$$\text{Orden cero: } Q_t = Q_0 + K_0 t$$

$$\text{Primer orden: } \ln Q_t = \ln Q_0 + K_1 t$$

$$\text{Higuchi: } Q_t = K_H \sqrt{t}$$

$$\text{Hixson-Crowell: } Q_0^{1/3} - Q_t^{1/3} = K_s t$$

$$\text{Korsmeyer Peppas: } Q_t/Q = K_k t^n$$

Donde Q_t es la cantidad de fármaco disuelta en el tiempo t , Q_0 es la cantidad inicial de fármaco en la solución (en la mayoría de los casos, $Q_0 = 0$), t es el tiempo, n es el exponente de liberación, y K_0 , K_1 , K_H , K_s y K_k son las constantes de orden cero, primer orden, Higuchi, Hixson-Crowell y Korsmeyer-Peppas, respectivamente (figura 3).

The release parameters and mechanism of release of carvedilol from the buccal tablets were investigated by fitting the data to Zero order, First order, Higuchi, Hixson-Crowell and Korsmeyer-Peppas models using the following equations¹⁹.

$$\text{Zero order - } Q_t = Q_0 + K_0 t$$

$$\text{First order - } \ln Q_t = \ln Q_0 + K_1 t$$

$$\text{Higuchi - } Q_t = K_H \sqrt{t}$$

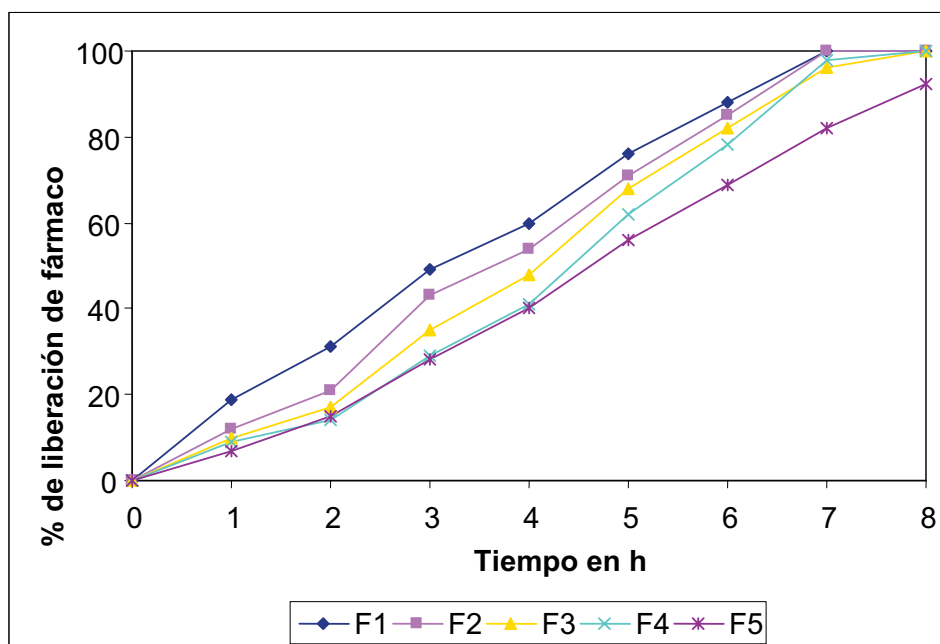
$$\text{Hixson-Crowell - } Q_0^{1/3} - Q_t^{1/3} = K_s t$$

$$\text{Korsmeyer Peppas - } Q_t/Q = K_k t^n$$

Where, Q_t is the amount of drug dissolved in time t , Q_0 is the initial amount of drug in the solution (most times, $Q_0 = 0$), t is the time, n is release exponent and K_0 , K_1 , K_H , K_s and K_k are the Zero order, First order, Higuchi, Hixson-Crowell and Korsmeyer-Peppas constants respectively (figure 3).

FIGURA 3. Perfil de liberación in vitro de F1 a F5.

FIGURE 3. In vitro release profile of F1 to F5.



Estudio farmacocinético

Para el estudio se utilizaron conejos blancos macho con un peso de entre 2,0 y 2,5 kg, tras un período de aclimatación de una semana (6 conejos / grupo). Durante los estudios se observaron las indicaciones del comité ético para la investigación con animales (Animal Ethical Committee Guidelines). Para anestesiarse los conejos se utilizó diazepam (5 mg/kg; i. m.) y ketamina (40 mg/kg; i. p.). El comprimido bicapa se aplicó directamente en la cavidad bucal de los conejos a los 15 minutos de administrar la anestesia. A uno de los grupos se le administraron comprimidos convencionales (6,25 mg), para comparar los parámetros farmacocinéticos orales y bucales. Como control para el experimento se utilizaron conejos sanos. A intervalos de 1 h, hasta 8 h, se extrajeron entre 0,5 y 1,0 ml de sangre de la vena marginal de la oreja mediante una aguja del calibre 26. La sangre se centrifugó a 8000 rpm, durante 10 min., a una temperatura de 15 °C (centrifugador Sigma 3K30, Alemania) y se recolectó el plasma. La separación de las proteínas del plasma se hizo añadiendo la cantidad equivalente de metanol y se centrifugó a 10000 rpm durante 10 min. a una temperatura de 15 °C. A continuación, se recolectó el plasma sin proteínas y se analizó mediante cromatografía de líquidos de alto rendimiento (HPLC, Dionex).

Análisis de las muestras de sangre

Se mezclaron 0,2 ml de plasma con 50 µl de etil p-hidroxibenzoato como estándar interno y se inyectó (20 µl) mediante un filtro de jeringa en un HPLC isocrático con detector de UV visibles (UVD 170U). La columna empleada fue la C18 (4,6 x 100 mm, 3,5 µm) Waters, Irlanda. El cromatógrafo estaba formado por un sistema cromatográfico de alto rendimiento con software Chromeleon. La fase móvil estaba compuesta de metanol-50 mM KH₂PO₄, pH 2,5 (60:40, v/v) y la velocidad de flujo se ajustó a 1,0 ml/min. Se efectuaron mediciones con una longitud de onda de excitación de 242 nm y una longitud de onda de emisión de 344 nm²¹.

El área bajo las curvas (AUC) de la concentración de fármaco en plasma se determinó mediante el método de la regla trapezoidal, y se registraron los valores de C_{max} y T_{max}. Los datos

Pharmacokinetic study

Male white rabbits weighing (2.0-2.5 kg) were used for the studies after an acclimatization period of one week (6 rabbits / group). Animal Ethical Committee Guidelines were observed during the studies. Rabbits were anesthetized by diazepam (5 mg/kg; i. m.) and ketamine (40mg/kg; i. p.). The bilayer tablet was applied directly to the buccal pouch of the rabbits after 15 min following anesthesia. Conventional tablets (6.25 mg) were administered orally to one group to compare oral and buccal pharmacokinetic parameters. Naive rabbits were used as a control for the experiment. At an interval of 1 h, up to 8 h, 0.5-1.0 ml of blood was withdrawn via marginal ear vein using a 26 gauge needle. The blood was centrifuged at 8000 rpm, 10 min, T-15°C (Sigma centrifuge- 3K30, Germany) and plasma was collected. Protein separation from the plasma was done by adding equivalent amount of methanol and centrifuged at 10000 rpm for 10 min at T - 15°C. Then protein free plasma was collected and analyzed by High Performance Liquid Chromatography (HPLC, Dionex).

Analysis of blood sample

0.2 ml plasma was mixed with 50 µl ethyl p-hydroxybenzoate acting as internal standard and injected (20 µl) through syringe filter into a isocratic HPLC with a UV-visible detector (UVD 170U). The column employed was C18 (4.6 x 100 mm, 3.5 µm) Waters, Ireland. The chromatograph consisted of a high performance chromatographic system with Chromeleon software. The mobile phase consisted of methanol-50 mM KH₂PO₄, pH 2.5 (60:40, v/v) and the flow-rate was adjusted to 1.0 ml/min. Measurements were made at an excitation wavelength of 242 nm and emission wavelength of 344 nm²¹.

Area under curves (AUC) of the plasma drug concentration was determined with the trapezoidal rule method and C_{max}, T_{max} were recorded. The pharmacokinetic data was compared with that obtained from the conventional oral tablets²⁰. Statistical analyses were completed using ANOVA wherein p values <0.05 were considered statistically significant.

farmacocinéticos se compararon con los obtenidos de los comprimidos orales tradicionales²⁰. El análisis estadístico se realizó mediante ANOVA, considerándose estadísticamente significativos los valores de $p < 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las composiciones de las formulaciones se indican en las tablas 1 y 2. En total, se prepararon seis formulaciones, utilizando distintas proporciones de CP 934P y HPMC K4M. La técnica de doble compresión directa resultó satisfactoria para la formulación de comprimidos bicapa de carvedilol. Los parámetros físico-químicos de los comprimidos bucales bicapa se representan en la Tabla 3. El diámetro de los comprimidos variaba entre $8,10 \pm 0,10$ y $8,22 \pm 0,18$ mm. El grosor de los comprimidos estaba entre $2,55 \pm 0,10$ y $2,60 \pm 0,12$ mm. El peso total de los comprimidos formulados estaba entre $170,80 \pm 4,42$ y $176,23 \pm 4,63$ mg. Los valores anteriores fueron satisfactorios y se encontraron dentro de los límites de variación de la farmacopea.

RESULTS AND DISCUSSION

Formulation compositions are shown in Table 1 and Table 2. Total six formulations were prepared employing different ratios of CP 934P and HPMC K4M. Double direct compression technique was found satisfactory for formulation of bilayered carvedilol tablets. Physicochemical parameters of the bilayered buccal tablets are depicted in Table 3. Diameter of the tablets ranged from 8.10 ± 0.10 to 8.22 ± 0.18 mm. Thickness of the tablets were found to be from 2.55 ± 0.10 to 2.60 ± 0.12 mm. Total weight of formulated tablets were between 170.80 ± 4.42 to 176.23 ± 4.63 mg. The above values were found satisfactory and within pharmacopoeial limits of variation.

TABLA 1. Composiciones de la capa mucoadherente.
TABLE 1. Compositions of the mucoadhesive layer.

Composición (%) <i>Composition (%)</i>		CÓDIGO DE FORMULACIÓN <i>FORMULATION CODE</i>					
		F1	F2	F3	F4	F5	F6
Carvedilol <i>Carvedilol</i>		6,25	6,25	6,25	6,25	6,25	6,25
CP: HPMC <i>CP: HPMC</i>	Proporción <i>Ratio</i>	0:10	2:8	4:6	6:4	8:2	10:0
	%	39,25	39,25	39,25	39,25	39,25	39,25
Tabletosa 100 <i>Tabletose 100</i>		49,5	49,5	49,5	49,5	49,5	49,5
Talco <i>Talc</i>		3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Estearato de magnesio <i>Magnesium stearate</i>		2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00

Peso de la capa mucoadherente: 100 mg.
Weight of mucoadhesive layer-100 mg.

TABLA 2. Composiciones de la capa de protección.
TABLE 2. Compositions of the protective layer.

Excipientes(%) <i>Excipients(%)</i>	Cantidad (%) <i>Qty (%)</i>
Etilcelulosa <i>Ethyl cellulose</i>	38,57
Hidroxipropilcelulosa <i>Hydroxy Propyl Cellulose</i>	24,28
Tabletosa <i>Tabletose</i>	34,29
Estearato de Mg <i>Mg. stearate</i>	2,86

Peso de la capa de protección: 70 mg.

Peso total del comprimido: 170 mg.

Weight of protective layer-70 mg

Total weight of tablet – 170 mg.

TABLA 3. Parámetros físico-químicos del comprimido bucal bicapa.
TABLE 3. Physicochemical parameters of the bilayered buccal tablet.

	CÓDIGO DE FORMULACIÓN <i>FORMULATION CODE</i>					
	F1	F2	F3	F4	F5	F6
CP:HPMC	0:10	2:8	4:6	6:4	8:2	10:0
Diámetro (mm) <i>Diameter (mm)</i>	8,12 ± 0,20	8,10 ± 0,15	8,22 ± 0,18	8,10 ± 0,20	8,05 ± 0,10	8,20 ± 0,15
Espesor (mm) <i>Thickness (mm)</i>	2,57 ±0,10	2,58 ±0,12	2,58 ± 0,10	2,60 ± 0,15	2,55 ± 0,10	2,60 ± 0,12
Peso medio (mg) <i>Average wt. (mg)</i>	170,98 ± 5,69	175,56 ± 6,45	174,89 ± 6,96	176,23 ± 4,63	170,80 ± 4,42	172,22 ± 5,22
Ensayo (%) <i>Assay (%)</i>	95,44 ± 2,57 %	96,10 ± 2,02 %	96,11 ± 1,48 %	95,47 ± 1,67 %	97,45 ± 2,15 %	94,36 ± 1,14 %
pH superficial <i>Surface pH</i>	6,1 ± 0,3	5,8 ± 0,3	6,0 ± 0,2	6,0 ± 0,2	6,2 ± 0,2	6,0 ± 0,2

(n=6)± R.S.D.

Los valores del ensayo se encontraron entre $94,36 \pm 1,14$ y $97,45 \pm 2,15$ %. El pH superficial de todas las formulaciones se encontraba entre $5,8 \pm 0,3$ y $6,2 \pm 0,2$. Los valores obtenidos se aproximan a 6,4, es decir, el pH de la mucosa bucal²² y por tanto no se esperó ninguna irritación de la mucosa ni respuesta alérgica debidas al pH de la formulación.

Expansión

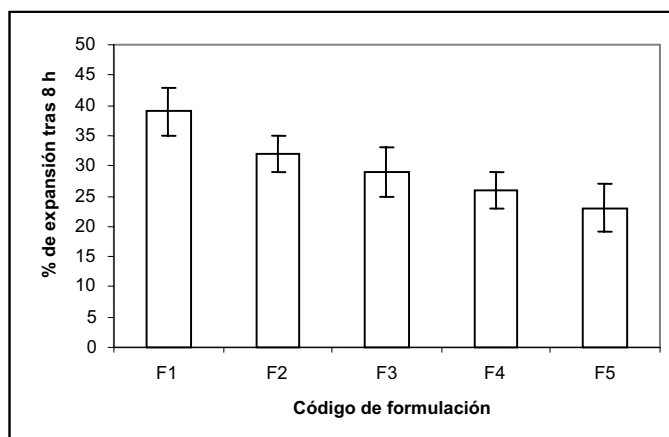
La expansión de la formulación bioadherente es un requisito previo importante y un parámetro crucial para el fenómeno de la bioadhesión²³. La expansión del polímero permite la formación del entramado mecánico, al abrir los sitios bioadherentes y permitir el enlace de hidrógeno entre el polímero y la mucosa²³. El índice de expansión de la formulación desarrollada se muestra en la figura 1. Todas las formulaciones desarrolladas presentaron un índice de expansión satisfactorio, requerido para la mucoadherencia. El índice de expansión aumentó al aumentar la proporción de HPMC K4M en la formulación. La expansión máxima (39 ± 4 %) se observó en F1, que contenía sólo HPMC K4M. Los resultados concuerdan con los obtenidos por Mahaguna et al²⁵. No fue posible realizar el estudio en F6, que contenía sólo CP 934P, porque la formulación no mantuvo su integridad y se colapsó a la 3ª hora del estudio. La posible razón del colapso de la formulación que contenía sólo CP 934P es que la resistencia del CP 934P es muy baja y forma un gel muy transparente al entrar en contacto con agua o saliva. La diferencia en la expansión de los polímeros se puede atribuir a la diferencia en la resistencia de la estructura de red de la matriz al enlace de agua²⁶.

Assay values ranged from 94.36 ± 1.14 to 97.45 ± 2.15 %. The surface pH of all the formulations was within 5.8 ± 0.3 to 6.2 ± 0.2 . The obtained values are close to 6.4 i.e. buccal mucosal pH²² and hence no mucosal irritation and allergic response was expected due to formulation pH.

Swelling

The swelling of the bioadhesive formulation is an important prerequisite and crucial parameter for the phenomenon of bioadhesion²³. Polymer swelling permits a mechanical entanglement by opening the bioadhesive sites for hydrogen bonding between the polymer and the mucosa²³. Swelling index of developed formulation is shown in Fig 1. All the developed formulations exhibited satisfactory swelling index required for mucoadhesion. The swelling index increased with increase in proportion of HPMC K4M in the formulation. Maximum swelling (39 ± 4 %) was observed in F1, which contained only HPMC K4M. The results are in agreement with those of Mahaguna et al²⁵. Study could not be conducted in F6, which contained only CP 934P because the formulation did not maintain its integrity and collapsed during the 3rd hr of study. The possible reason for collapsing of formulation which contained only CP 934P is that CP 934P has very low strength and forms very lucid gel when comes it in contact with water or saliva. The difference in swelling of the polymers could be attributed to the difference in resistance of the matrix network structure to the water bonding²⁶.

FIGURA 1. % de expansión de los comprimidos después de 8 horas.
FIGURE 1. % Swelling of bilayered buccal tablets after 8th hr.



Mucoadherencia *in vitro*

La importancia de la capacidad del polímero para absorber agua de la mucosa ha demostrado ser un determinante principal de la mucoadherencia^{24, 27}. La adherencia tiene lugar poco después de la absorción de agua, pero aumenta hasta el punto en el que la sobrehidratación tiene como resultado un descenso en la fuerza mucoadherente debido a la ruptura del entramado en la interfaz polímero/tejido²⁸. Las fuerzas mucoadherentes de las formulaciones desarrolladas se encontraron entre $0,9 \pm 0,2$ y $3,5 \pm 0,6$ N. Los resultados muestran que al aumentar la proporción de CP 934P aumentó gradualmente la fuerza. La formulación que mostró la máxima fuerza ($3,5 \pm 0,6$ N) fue F5, que contenía CP 934P: HPMC K4M en una proporción de 8:2. Sin embargo, la formulación que contenía sólo CP 934P se colapsó durante el estudio, por lo que no se pudo llevar a cabo el estudio de mucoadherencia en ella. La combinación de CP 934P y HPMC K4M ha presentado una mayor fuerza de adhesión que los polímeros individuales, lo que implica que ambos polímeros pueden haber tenido un efecto sinérgico.

Estudio de liberación *in vitro*

El perfil de liberación *in vitro* de las formulaciones diseñadas se muestra en las figuras 3 y 4. La máxima liberación de fármaco se observó en F1; liberó el 100 % del fármaco en 7 h. La mayor velocidad de liberación de fármaco que

In vitro mucoadhesion

The importance of the ability of the polymer to take up water from the mucus has been shown to be a primary determinant of mucoadhesion^{24, 27}. Adhesion occurs shortly after water uptake but adhesion will increase until the point where over hydration results in a drop in mucoadhesive strength due to disentanglement at the polymer/tissue interface²⁸. Mucoadhesive forces of developed formulations were between 0.9 ± 0.2 to 3.5 ± 0.6 N. The results show that gradual increase in force was obtained as proportion of CP 934P increased. Maximum force was shown by F5 (3.5 ± 0.6 N) which contained CP 934P: HPMC K4M in ratio of 8:2. However, the formulation containing CP 934P alone was collapsed during the study therefore mucoadhesion study was not carried out. The combination of CP 934P and HPMC K4M has shown maximum adhesive force than by individual polymers, which implies that both the polymers may have acted synergistically.

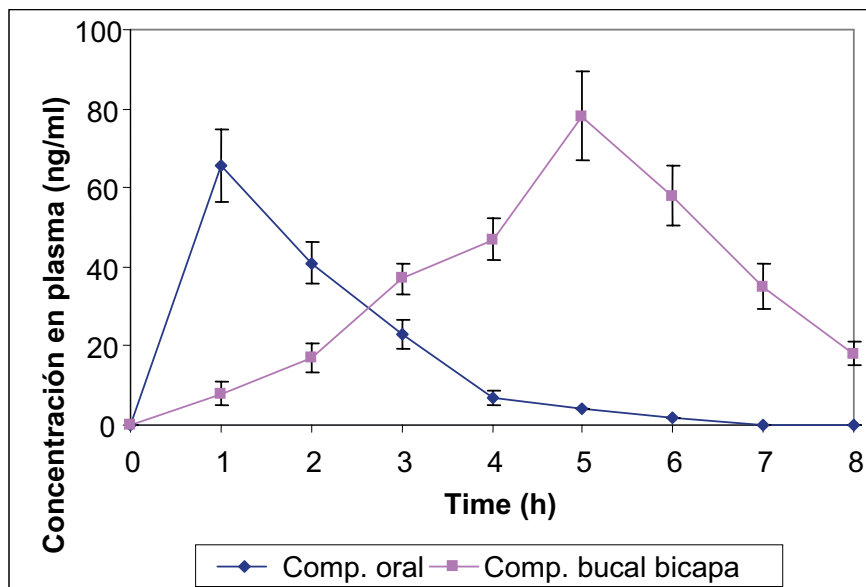
In vitro release study

In vitro release profile of the designed formulations is shown in Fig 3. Maximum drug release was observed in F1; it released 100 % of the drug in 7 h. The fastest rate of drug release exhibited by formulations containing HPMC K4M alone (F1), could be attributed to its highest swelling indices, as greater swelling of the matrices leads to faster diffusion of the drug and results in faster release of drug³⁰.

presentaron las formulaciones que contenían sólo HPMC K4M (F1) se podría atribuir a que sus índices de expansión son más elevados, ya que una mayor expansión de la matriz tiene como resultado una difusión más rápida del fármaco y, por tanto, una liberación más rápida del mismo³⁰.

FIGURA 4. Concentración en plasma en relación al perfil de los comprimidos orales y bucales bicapa de carvedilol.

FIGURE 4. Plasma concentration Vs time profile of oral and bilayered buccal tablets of carvedilol.



El estudio no se pudo llevar a cabo en la formulación que contenía sólo CP 934P (F6), debido a la formación de gel y el colapso de la formulación en la 3^a hora del estudio. La posible razón de ello es que puede que se produzca una ionización de CP 934P, ya que el pH 6.8 del experimento es superior a su constante de ionización (pKa) 6.0. Este proceso de ionización lleva al desarrollo de cargas negativas en la superficie del polímero y, debido a ello, la estructura del polímero se amplía y permite que las moléculas de agua penetren en ella, lo que provoca una mayor expansión y no permite controlar la liberación del fármaco²⁹.

Para investigar la cinética de la liberación de carvedilol en los comprimidos bucales bicapa, se aplicaron los datos de liberación a los modelos de orden cero, primer orden, Higuchi, Hixson-Crowell y Korsmeyer Peppas, y se determinó el mejor ajuste. Los valores de r^2 , K y n se indican

The study could not be conducted in formulation containing CP 934P alone (F6) because of formation of gel and collapsing of formulation at 3rd hr of study. The possible reason behind it is that there might be ionization of CP 934P at experimental pH 6.8 which is higher than its ionization constant (pKa) 6.0. This ionization process will lead to development of negative charges at the polymer surface and due to this; polymer state will change into an extended structure allowing water molecules to penetrate into it, leading to higher swelling, and unable to control drug release²⁹.

To investigate the kinetics of carvedilol release from bilayered buccal tablets the release data was applied to, zero order, first order, Higuchi, Hixson-crowell and Korsmeyer Peppas models and best fit was determined. The values of r^2 , K and n are listed in table 4. It is known that, if the values of n are in between 0 – 0.5 then it

en la tabla 4. Se sabe que si los valores de n se encuentran entre 0 y 0,5 se produce una difusión Fickian, y si se encuentran entre 0,5 y 1,0 el patrón de difusión es no Fickian^{18, 19}.

follows fickian diffusion and if n values lies in between 0.5 -1.0 it supports non-fickian diffusion pattern^{18, 19}.

TABLA 4. Ajuste al modelo de la liberación de carvedilol de los comprimidos bucales bicapa
TABLE 4. Model fitting of carvedilol release from bilayered buccal tablets

Código de formulación <i>Formulation Code</i>	Orden cero <i>Zero Order</i>		Primer orden <i>First Order</i>		Higuchi <i>Higuchi</i>		Hixson-Crowell <i>Hixson Crowell</i>		Korsmeyer Peppas <i>Korsmeyer Peppas</i>		
	K_0	r^2	K_1	r^2	K_H	r^2	K_s	r^2	K_k	r^2	n
F1	13.06	0.980	0.14	0.933	39.19	0.949	0.46	0.737	6.90	0.992	0.73
F2	13.66	0.985	0.13	0.917	39.96	0.906	0.49	0.809	12.33	0.985	0.93
F3	13.68	0.987	0.17	0.810	39.37	0.879	0.5	0.846	15.48	0.985	1.04
F4	13.80	0.977	0.19	0.688	39.02	0.841	0.03	0.811	18.62	0.978	1.12
F5	12.16	0.991	0.12	0.875	34.62	0.864	0.49	0.869	19.05	0.997	1.17

Los resultados indican que el mecanismo de liberación cambia con el tipo y la cantidad de polímero incorporado a la formulación, lo que se ve reflejado en los valores observados del exponente de liberación. En la formulación F1, que contenía sólo HPMC K4M, el valor de n fue de 0,73, lo que indica una liberación no Fickian, es decir, que la liberación del fármaco se produce por una combinación de erosión y difusión. Al aumentar gradualmente el contenido de CP 934P en la formulación, se observó que los valores de n aumentaron de 0,73 a 1,17. Esto indica que el patrón de liberación seguía un modelo de orden cero que concuerda con una liberación no Fickian con transporte de caso II, lo que implica que la difusión es el método de liberación dominante. Con valores de n superiores a 1,0 (F3, F4 y F5), se produce la liberación no Fickian con transporte super caso II^{31, 32}.

The results indicate that the release mechanism changed with the type and amount of polymer incorporated in the formulation and this can be reflected by the observed values of release exponent. The formulation F1, which contained only HPMC K4M, n value was 0.73; indicating non-fickian release i.e drug release is the combination of erosion and diffusion. When concentration of CP 934P was gradually increased in the formulation, n values were found to increase from 0.73 to 1.17. This shows that release pattern followed zero order model confirming to non-fickian release with case II transport, implying diffusion is dominant in the release mechanism. For n values greater than 1.0 (F3, F4 and F5), non-fickian release with super case II transport is followed^{31, 32}.

Estudio farmacocinético

La representación gráfica de la curva de concentración en plasma muestra evidencia de un patrón de liberación sostenida en los comprimidos bucales, en comparación con los comprimidos convencionales administrados por vía oral (fig. 5). Los parámetros farmacocinéticos, como C_{max} ,

Pharmacokinetic Study

Graphical representation of the plasma concentration curve showed evidence of sustained release pattern from buccal tablet as compared to oral administered conventional tablets (Fig 4). Pharmacokinetic parameters such as C_{max} , T_{max} and area under the curve (AUC) are reported in Table 5. The average C_{max} for the bilayered buccal tablet and conventional oral tablet are $78.01 \pm$

T_{max} y el área bajo la curva (AUC) se indican en la tabla 5. La media de C_{max} de los comprimidos bucales y los orales convencionales es de $78,01 \pm 11,23$ ng/ml y $65,56 \pm 9,10$ ng/ml respectivamente. Tras la administración oral, la absorción de carvedilol fue rápida, consiguiéndose una concentración máxima de plasma en 1 hora (t_{max}), mientras que en el comprimido bucal se observó al cabo de 5 horas. Además, los niveles de fármaco se disminuyeron por debajo de 7 ng/ml al cabo de 4 horas en el caso de los comprimidos orales, mientras que en los comprimidos bucales se detectaron niveles apreciables (47 ng/ml), lo que indica su efecto sostenido.

11.23 ng/ml and 65.56 ± 9.10 ng/ml respectively. Following oral administration, absorption of carvedilol was rapid with a peak plasma concentration achieved in 1 hr (t_{max}) while that of bilayered buccal tablet was observed at 5th h. Also, drug levels declined to less than 7 ng/ml by the 4th hr in case of oral tablet whereas appreciable levels (47ng/ml) could be detected in case of the buccal tablets, indicating its sustained effect.

TABLA 5. Parámetros farmacocinéticos del carvedilol de los comprimidos orales y bucales bicapa
TABLE 5. Pharmacokinetic parameters of carvedilol from oral and bilayered buccal tablet

Parámetros farmacocinéticos <i>Pharmacokinetic Parameters</i>	Comprimido oral <i>Oral Tablet</i>	Comprimido bucal bicapa (F5) <i>Bilayered Buccal Tablet (F5)</i>
C_{max} (ng/ml)	$65,56 \pm 9,10$	$78,01 \pm 11,23$
$T_{máx}$ (h)	1,0	5,0
AUC (ng/ml h ⁻¹)	$133,06 \pm 11,87$	$284,00 \pm 29,12$

n=6 ± R.S.D.

n=6 ± R.S.D.

Los valores del área bajo la curva (AUC) de los comprimidos orales y bucales fueron $133,06 \pm 11,87$ y $284,00 \pm 29,12$ ng-h/ml respectivamente. Estos datos revelan un aumento de la biodisponibilidad de aproximadamente el doble en el caso de los comprimidos bucales en comparación con los orales.

El análisis ANOVA reveló una diferencia significativa ($P < 0,05$) entre AUC en las formulaciones orales y bucales, lo que indica que la formulación bucal desarrollada ha mejorado significativamente la biodisponibilidad, en comparación con la formulación oral convencional. Por tanto, estos estudios preliminares *in vivo* demuestran claramente que el sistema bucal diseñado podrá cumplir los criterios de rendimiento en cuanto a mejora de la biodisponibilidad junto con una liberación sostenida de carvedilol.

CONCLUSIÓN

En resumen, se formuló un comprimido mucoadherente bicapa de carvedilol para ad-

Area under the curve values (AUC) for oral and buccal tablets were found to be 133.06 ± 11.87 and 284.00 ± 29.12 ng-hr/ml respectively. This data revealed that there is approximately two fold increase in bioavailability from the buccal tablet when compared with the oral tablet.

ANOVA revealed a significant difference ($P < 0.05$) between the AUC of oral and buccal formulations indicating that the developed buccal formulation has significantly improved bioavailability as compared to the conventional oral formulation. Thus, these preliminary *in vivo* studies clearly demonstrates that the designed bilayer buccal system will be able to fulfill the performance criteria of improving bioavailability along with sustained release of carvedilol.

CONCLUSION

In summary, mucoadhesive bilayered tablet of carvedilol was formulated for buccal application with the objective of improving bioavailability and providing sustained release. The batch containing

ministración bucal, con el objetivo de mejorar la biodisponibilidad y conseguir una liberación sostenida. El lote que contenía CP 934P: HPMC K4M en una proporción 8:2 (F5) presentó una expansión satisfactoria y propiedades bioadherentes, lo que es un requisito previo importante para un sistema de administración bucal ideal. El trabajo demuestra colectivamente que el lote F5 ha demostrado tener unas buenas características *in vitro* y un patrón de liberación sostenido. El ajuste al modelo de la cinética de liberación *in vitro* sugiere que sigue una cinética de liberación de orden cero. Un proceso de expansión-erosión moduló la liberación de carvedilol de los comprimidos bicapa, y se observó una cinética de transporte no Fickian, anómala y de caso II. Los datos farmacocinéticos revelaron un aumento de la biodisponibilidad de aproximadamente el doble en el comprimido bucal en comparación con el comprimido oral, y también presentó un comportamiento de liberación sostenida. Por tanto, esta investigación demuestra de forma concluyente el potencial del comprimido bicapa de carvedilol desarrollado para la administración bucal y se puede considerar una alternativa a los tratamientos convencionales existentes.

CP 934P: HPMC K4M in 8:2 ratio (F5), exhibited satisfactory swelling and bioadhesive properties which is an important prerequisite for an ideal buccal delivery system. The work collectively demonstrates that batch F5 has revealed good *in vitro* characteristics and exhibited sustained release pattern. Model fitting of the *in vitro* release kinetics suggested that it followed zero order release kinetics. A swelling-erosion-diffusion process modulated carvedilol release from bilayer tablets and a non-Fickian, anomalous and case II transport kinetics was observed. Pharmacokinetic data revealed approximately two fold increase in bioavailability by the buccal tablet when compared with the oral tablet and also exhibited sustained release behavior. Thus, this investigation conclusively demonstrates the potential role of the developed carvedilol bilayer tablet in the buccal delivery and may be considered as an alternative to existing conventional therapy.

BIBLIOGRAFÍA/BIBLIOGRAPHY

1. Parvez N, Ahuja A, Khar RK. Development and evaluation of muco-adhesive buccal tablets of lignocaine hydrochloride. *Ind J Pharm Sci* 2002; 64: 563-567.
2. Rathbone M, Drummond B, Tucker B. The oral cavity as a site for systemic drug delivery. *Adv Drug Deli Rev* 1994; 13: 1-22.
3. Squier CA, Wertz PW. Structure and function of the oral mucosa and implications for drug delivery. in Rathbone MJ: (eds). *Oral Mucosal Drug Delivery*. Marcel Dekker. INC. New York. pp 1-26.1996.
4. Nagai T, Konishi R. Buccal/gingival drug delivery systems, *J Control Rel.* 1987; 6: 353-360.
5. Ishida M, Nambu N, Nagai T. Ointment type oral mucosal dosage forms of carbopol containing prednisolone for treatment of aphtha. *Chem Pharm Bull* 1983; 31: 1010-1014.
6. Gurny R, Meyer JM, Peppas NA. Bioadhesive intra oral release system: design, testing and analysis. *Biomaterials* 1984; 5: 336-340.
7. Ponchel G, Touchard F, Duchene D, Peppas NA. Bioadhesive analysis of controlled-release systems: I Fracture and interpretation analysis in poly (acrylic acid) containing systems. *J Control Rel* 1987; 5:129-141.
8. Berthold A, Cremer K, Kreuter J. Preparation and characterization of chitosan microspheres as drug carrier for prednisolone sodium phosphate as model for anti-inflammatory drugs. *J Control Rel* 1996; 39:17-25.
9. Voorspoels J, Remon JP, Eechaute W, DeSy W. Buccal absorption of testosterone and its esters using a bioadhesive tablet in dogs. *Pharm Res* 1996; 13: 1228-1232.
10. Senel S, Ikinici G, Kas S, Yousefi-Rad A, Sargon MF, Hincal AA. Chitosan films and hydrogels of chlorhexidine gluconate for oral mucosal delivery. *Int J Pharm* 2000; 193: 197-203.
11. Mumtaz AM, Ch'ng HS. Evaluation of bioadhesive buccal tablets containing triamcinolone acetonide in healthy volunteers. *Int J Pharm* 1995; 121: 249-254.
12. Llabot JM, Manzo RH, Allemandi DA. Double-layered mucoadhesive tablets containing nystatin. *AAPS PharmSciTech*, 2002; 3: article 22.
13. Tripathi KD. Antiadrenergic drugs (adrenergic receptor antagonists), in: (eds). *Essentials of Medical Pharmacology*. 4th ed., Jaypee Publishers, New Delhi, pp 131.1999.
14. Ruffolo RR, Gellai M, Heible JP, Willette RN, Niicholas AJ. The pharmacology of carvedilol. *Eur J Clin Phrmacol* 1990; 38: S 82.

15. Nafee NA, Ismail FA, Boraie NA, Mortada LM. Mucoadhesive delivery systems II - Formulation and in-vitro/in-vivo evaluation of buccal mucoadhesive tablets containing water-soluble drugs. *Drug Dev Ind Pharm* 2004; 30: 995-1004.
16. Shojaei H, Paulson J, Honary S. Evaluation of poly (acrylic acid-co-ethylhexyl acrylate) films for mucoadhesive trans-buccal drug delivery: factors affecting the force of mucoadhesion. *J Control Rel* 2000; 67: 223-232.
17. Oliviera AG de, Giacomelli FC, Giacomelli C, Spinelli A. Microstructure and surface composition effects on the transpassivation of NiTi wires for implant purposes. *J Braz Chem Soc* 2005; 16: 131-138.
18. Dortunc B, Ozer L, Uyanik N. Development and in vitro evaluation of a buccoadhesive pindolol formulation. *Drug Dev Ind Pharm* 1998; 24: 281-188.
19. Costa P, Lobo JSM. Modeling and comparison of dissolution profile. *Eur J Pharm Sci* 2001; 13: 123-133.
20. Miyazaki S, Nakayama A, Oda M, Takada M, Attwood M. Drug release from mucosal adhesive tablets of chitosan and sodium alginate. *Int J Pharm* 1995; 118: 257-263.
21. Hokama N, Hobara N, Kameya H, Ohshiro S, Sakanashi M. Rapid and simple micro-determination of carvedilol in rat plasma by high-performance liquid chromatography. *J Chrom B*, 1999; 732: 233-238.
22. Repka MA, Prodduturi S, Munjal M, Mididoddi P. Matrix and reservoir based transmucosal delivery systems: tailoring delivery solutions. *Am J Drug Deli*, 2004; 2: 173-192.
23. Huntsberger JR. Surface energy, wetting and erosion. *J. Adhesion* 1971; 6: 11-14.
24. Salamat-Miller N, Chittchang M, Johnston TP. The use of mucoadhesive polymers in buccal drug delivery. *Adv Drug Deli Rev* 2005; 57: 1666- 1691.
25. Mahaguna V, Talbert RL, Peters JI. Influence of hydroxypropyl methylcellulose polymer on in vitro and in vivo performance of controlled release tablets containing alprazolam. *Eur J Pharm Biopharm* 2003;56:461-468.
26. Panomsuk SP, Hatanaka T, Aiba T, Katayama K, Koizumi T. A study of the hydrophilic cellulose matrix: effect of drugs on the swelling properties. *Chem Pharm Bull* 1996;44: 1039- 1042.
27. Grabovac V, Guggi D, Bernkop-Schnurch A. Comparison of the mucoadhesive properties of various polymers. *Adv Drug Deli Rev* 2005; 57: 1713- 1723.
28. Peh KK, Wong CF. Polymeric films as vehicle for buccal delivery: swelling, mechanical and bioadhesive properties. *J Pharm Pharm Sci* 1999; 2: 53-61.
29. Desai KGH, Pramodkumar TM. Preparation and evaluation of a novel buccal adhesive system. *AAPS PharmSciTech* 2004; 5: Article 35.
30. Agarwal V, Mishra B. Design, development, and biopharmaceutical properties of buccoadhesive compacts of pentazocine. *Drug Dev Ind Pharm* 1999; 25: 701-709.
31. Ritger PL, Peppas A. A simple equation for description of solute release. II. fickian and anomalous release from swellable devices. *J Control Rel* 1987; 5: 37-42.
32. Jug M, Becirevic-Lacan M. Influence of hydroxypropyl- β -cyclodextrin complexation on piroxicam release from buccoadhesive tablets. *Eur J Pharm Sci* 2004; 21: 251-260.