

# 吲哚美辛眼用缓释微球的制备及性能评价

高颖<sup>1</sup> 吴艺君<sup>1</sup> 李杰<sup>1,3</sup> 金蓉蓉<sup>2</sup> 李文生<sup>1</sup> 温俊<sup>2</sup> (1. 温州医学院附属眼视光医院, 浙江 温州 325027; 2. 温州医学院药学院, 浙江 温州 325027; 3. 温州市生物材料工程技术研究中心, 浙江 温州 325027)

**摘要:**目的 制备吲哚美辛聚乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA)/Eudragit RS 100 眼用缓释微球,并进行表征。方法 采用O/W溶剂挥发法制备吲哚美辛 PLGA/Eudragit RS 100 微球,对微球的表面形态、载药量、包封率、体外释放特点、粒径、有机溶剂残留量、表面电位进行了表征分析,使用人视网膜色素上皮细胞(RPE cells)评估空白微球的细胞毒性。结果 载体材料 PLGA 与 Eudragit RS 100 质量比为 1:3 的吲哚美辛微球,电镜观察颗粒分布均匀,表面光滑;平均粒径为(1 676.4 ± 739.5) nm;载药量为(18.79 ± 0.19)%,包封率为(98.25 ± 2.11)%,第 1 天存在突释,随后可以缓慢释放一个月左右;有机残留量平均为(267.33 ± 13.57) ppm;空白微球表面电位为正电荷;空白微球无细胞毒性。结论 吲哚美辛 PLGA/Eudragit RS 100 眼用缓释微球具有包封率高、粒径窄、体外释放缓慢、安全性好等特点,具有很好的临床应用前景。

**关键词:** 吲哚美辛; 聚乳酸-羟基乙酸共聚物; 聚丙烯酸树脂类; 缓释微球; 溶剂挥发法

中图分类号: R944 文献标志码: A 文章编号: 1001-2494(2012)17-1391-05

## Preparation and Physicochemical Evaluation of Indomethacin Sustained-Release Microspheres for Ophthalmic Delivery

GAO Ying<sup>1</sup>, WU Yi-jun<sup>1</sup>, LI Jie<sup>1,3</sup>, JING Rong-rong<sup>2</sup>, LI Wen-sheng<sup>1</sup>, WEN Jun<sup>2</sup> (1. Eye Hospital, School of Ophthalmology and Optometry, Wenzhou Medical College, Wenzhou 325027, China; 2. Wenzhou Medical College Pharmacy School, Wenzhou 325027, China; 3. Biomedical Engineering Academy, Wenzhou Medical College, Wenzhou 325027, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To obtain sustained-release indomethacin PLGA/Eudragit RS 100 microspheres for ophthalmic application and to evaluate its quality. **METHODS** The microspheres were prepared by O/W solvent evaporation using PLGA and Eudragit RS 100. The morphological, drug content, entrapment efficiency, release behavior, particle size, residual organic solvent, Zeta potential of indomethacin PLGA/Eudragit RS 100 microspheres were determined; meanwhile, the cytotoxicity of blank microspheres was evaluated using PRE cells. **RESULTS** Indomethacin microspheres containing PLGA and Eudragit RS 100 at the weight ratio of 1:3 had even particle size distribution, and their surfaces were smooth under scan electronic microscope; and the mean diameters were (1 676.4 ± 739.5) nm. The drug content and entrapment efficiency of the microspheres were (18.79 ± 0.19)% and (98.25 ± 2.11)%, respectively. Indomethacin was released slowly for a month from the microspheres, though burst release was observed within 24 h. The mean residual organic solvent was (267.33 ± 13.57) ppm. The zeta potential of all blank PLGA/Eudragit RS 100 microspheres was positive. The blank microspheres showed no sign of toxicity. **CONCLUSION** Indomethacin PLGA/Eudragit RS 100 microspheres have a better clinical application prospect due to its high entrapment efficiency, narrow distribution, slow release and ocular safety.

**KEY WORDS:** indomethacin; PLGA; Eudragit RS 100; sustained-release microspheres; solvent evaporation

吲哚美辛为非甾体抗炎药(nonsteroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs),它能直接抑制环氧化酶(Cox)活性,阻止前列腺素(PG)合成,对脂氧酶也有抑制作用,从而减少白三烯(LT)生成。吲哚美辛具有良好的抗炎、解热、镇痛作用,广泛用于类风湿

性疾病、炎性疾病、疼痛等疾病的治疗。近年来,吲哚美辛逐渐应用于眼科疾病防治中,包括眼部炎症<sup>[1-2]</sup>、白内障手术<sup>[3]</sup>、青光眼<sup>[4]</sup>、眼底病<sup>[5]</sup>等,市场上使用的是 0.1% 吲哚美辛滴眼液。由于眼是一个相对独立的器官,具有自身屏障和保护系统,药物会

基金项目: 浙江省大学生科技创新活动计划(新苗人才计划)资助项目(2010R413051); 浙江省医药卫生科学研究基金资助项目(2009A138); 温州市科技局面上项目资助(Y20090014); 温州医学院本专科学生科研立项资助课题(wyx201001007)

作者简介: 高颖,女,研究生硕士 研究方向: 眼科用药和生物材料在眼科应用 \* 通讯作者: 温俊,女,副教授 研究方向: 药理和生物材料应用 Tel: 13968834266 E-mail: terwj2004@yahoo.com.cn

通过眼泪 瞬目损失 ,从而导致传统制剂的药物生物利用度低<sup>[6]</sup>。吲哚美辛在玻璃体内半衰期短<sup>[7]</sup> ,对于病程长的眼后段疾病需要多次给药才能达到治疗浓度 ,这就增加了眼部其他副作用 ,降低了病人用药的顺应性。

微球制剂因能维持药物有效浓度 ,降低患者用药频率 ,提高患者顺应性而广受关注。聚乳酸-羟基乙酸共聚物 [poly ( D , L-lactic-co-glycolic acid , PLGA ) ]的安全性、生物相容性和可降解性早已被美国 FDA 证实 ,目前已广泛应用于控释系统。聚丙烯酸树脂类也已很早应用于缓释制剂中<sup>[8-9]</sup> ,有实验制备 Eudragit RS/RL-吲哚美辛缓释固体分散剂 ,但是粒径较大 ,缓释时间短暂 ,不能满足病程长的疾病的需求<sup>[10]</sup>。为了避免多次注射引起的并发症和给病人带来的痛苦 ,有必要研究吲哚美辛眼用缓释微球。

## 1 材料

### 1.1 试剂

吲哚美辛原料药(中国药品生物制品检定所 ,批号:100258-200904); PLGA(50:50 ,相对分子质量 60 000 ,济南岱罡生物工程有限公司); Eudragit RS 100(赢创罗姆药用树脂部 ,德国); PVA (相对分子质量 30 000 ~ 70 000 ,醇解度 81% ~ 90% ,Sigma 公司); 二氯甲烷(分析纯); 二甲基甲酰胺(分析纯); 乙腈为色谱纯; 冰醋酸为分析纯; 超纯水; 人 RPE 细胞(温州医学院眼视光学院 ,侯陵教授惠赠)。

### 1.2 仪器

安捷伦 1200 系列高效液相色谱仪(美国安捷伦公司); Discovery DV 215 CD 电子分析天平(美国奥豪斯公司); CHRIST ALPHA 1-4/2-4 LD plus 冷冻干燥机(德国 CHRIST 公司); T10 型高剪切分散机(德国 IKA 公司); RE-2000 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂); 扫描电镜(Nova Nano SEM 200 ,FEI 公司); GCT900 气相色谱仪(上海天美科技仪器有限公司); N4PLUS 粒度分析仪(美国贝克曼库特公司); Zeta Plus 分析仪(美国布鲁克海文公司); Molecular Devices SpectraMax M5/M5e (美国分子仪器)。

## 2 方法

### 2.1 吲哚美辛缓释微球的制备

吲哚美辛缓释微球根据乳化液中干燥法(O/W)进行制备<sup>[11]</sup>。先将 250 mg 的 PLGA/Eudragit

RS 100 载体材料溶解于 5 mL 二氯甲烷中 ,精密称取一定量吲哚美辛原料药溶解于溶有材料的二氯甲烷中 ,将油相在高剪切分散机搅拌作用下滴加至 50 mL 2% PVA 水相中 ,搅拌(20 000 r · min<sup>-1</sup> ,10 min)后得到乳液 ,将乳液倒入旋转蒸发仪中 ,室温下旋转蒸发乳液中的有机溶剂(150 r · min<sup>-1</sup> ,4 h)。得到的乳液离心分离 ,再用双蒸水洗涤 3 次 ,最后冷冻干燥。

### 2.2 微球表面形貌

将冷冻干燥后的吲哚美辛微球粉末均匀涂抹在导电胶上 ,喷金制成电镜标本 ,经扫描电镜观察粒径分布情况及表面形态。

### 2.3 载药量和包封率

载药微球中吲哚美辛的含量通过 HPLC 检测 ,色谱条件为: ZORBAX Eclipse XDB-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 150 mm 5 μm); 流动相: 0.1 mol · L<sup>-1</sup> 冰醋酸溶液-乙腈(20:80); 检测波长: 320 nm; 柱温: 30 °C; 流速: 1.0 mL · min<sup>-1</sup>; 进样量 20 μL。在此色谱条件下 ,吲哚美辛的出峰时间为 2.296 min。称取 10 mg 吲哚美辛微球 ,用色谱条件下的流动相 1 mL 超声溶解 30 min ,然后将溶液通过 0.22 μm 有机微孔滤膜过滤。再用流动相稀释到一定浓度进样 ,根据 HPLC 标准曲线计算。

### 2.4 体外释放

精密称取载药微球 10 mg 放入透析袋中(相对分子质量 7 000) ,每个样品平行 3 份 ,放入 50 mL 离心管中 ,加入 0.01 mol PBS (pH 7.4 ~ 7.6) 10 mL 做为释放介质 ,于恒温摇床(37 °C ,100 r · min<sup>-1</sup>) 进行体外释放。分别于预先设计的时间点取样 ,每次取样 4 mL 再加入等量的新鲜 PBS 溶液。吲哚美辛的浓度通过 HPLC 检测 ,再根据标准曲线计算累积释药百分率。

### 2.5 有机溶剂残存

在微球制备过程中 ,只使用了二氯甲烷一种有机溶剂做为油相。微球中二氯甲烷量通过气相色谱仪测定 ,气相条件: 进样口: 250 °C; FID: 230 °C; 柱箱温度: 80 °C ,10 min; 载气流速: 10 mL · min<sup>-1</sup>; 柱压力: 282 KPa; 进样量: 0.05 μL; 二氯甲烷出峰时间: 0.32 min。平行称取 3 份样品 10 mg 微球到 1.5 mL 离心管 ,再加入 1 mL 二甲基甲酰胺 ,超声 30 min 使微球充分溶解 ,然后用微量进样器吸取 0.05 μL 溶液进样测量二氯甲烷残留量。

### 2.6 Zeta 电位分析

取少量冻干粉末 ,分散于超纯水中 ,超声 2 ~ 3

min,使其充分分散,然后静置一定时间后悬液达到稳定后,利用电位分析仪测定微球表面电位。

## 2.7 激光粒度仪

取少量冻干粉末,分散在150 mL超纯水中,超声0.5~1 h,使其充分分散。在室温下,利用激光粒度仪检测微球的平均粒径。样品的浓度维持在 $5 \times 10^{-4}$  counts  $\cdot$  s $^{-1}$ ,激光扫描角度90°。

## 2.8 PLGA/Eudragit RS 100 空白微球的安全性

### 2.8.1 人RPE细胞培养

人RPE细胞在DMEM F12(1:1)完全培养基(含10%胎牛血清、2 mmol  $\cdot$  L $^{-1}$ 谷氨酰胺、50 mg  $\cdot$  mL $^{-1}$ 庆大霉素)中培养,置于37  $^{\circ}$ C、5% CO $_2$ 恒温恒湿培养箱内,取对数生长期细胞进行实验。

### 2.8.2 浸提液制备

本实验使用浸提液考察空白微球对细胞毒性<sup>[12-13]</sup>。称取空白微球5 mg,分别放入含血清的培养液3 mL中,在相同的体外释放条件下(37  $^{\circ}$ C,100 r  $\cdot$  min $^{-1}$ ),制备浸提液,孵育72 h后离心取出上清液。该上清液即空白微球的浸提液。

### 2.8.3 细胞毒性

将每孔 $5 \times 10^4$ 个的人RPE细胞接种于96孔板内,细胞置于37  $^{\circ}$ C、5% CO $_2$ 恒温恒湿培养箱内分别培养48 h后,每组均设4个复孔,待细胞贴壁后,弃去上清液,加入浸提液150  $\mu$ L,未加空白微球浸提液组设为阴性对照组,于37  $^{\circ}$ C、5% CO $_2$ 孵箱中培养24 h后,然后加入MTS液20  $\mu$ L,继续在孵箱中培养2 h,最后用酶联免疫检测仪测定光密度,通过细胞相对增殖率(relative growth rate, RGR) = (实验组A均值/阴性对照组A均值)衡量细胞毒性作用<sup>[13]</sup>。

### 2.8.4 统计学分析方法

使用SPSS17.0统计软件进行数据分析。所有结果均以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间比较采用配对 $t$ 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 微球表面形态观察

电镜观察吲哚美辛 PLGA/Eudragit RS 100 微球,可见表面光滑,无残留物质黏附,团聚颗粒较少,颗粒均匀分布,见图1。

### 3.2 吲哚美辛微球载药量和包封率测定

本实验选用了载体材料 PLGA 和 Eudragit RS 100,以理论载药量为20%,通过改变载体材料的比例观察对微球载药量和包封率的影响,见图2。随着材料 Eudragit RS 100 比例的递增,微球的包封率

增加,当 PLGA 和 Eudragit RS 100 的质量比例为1:3时,载药微球的载药量为(18.79  $\pm$  0.19)%,包封率可达到(98.25  $\pm$  2.11)%。

### 3.3 吲哚美辛微球体外释放测定

以 PLGA 和 Eudragit RS 100 不同比例制备的吲哚美辛微球,其体外释放结果见图3。各组载药微球均比 IN 原料药释放缓慢,当 PLGA 与 Eudragit RS 100 的质量比为1:0时,第1天存在明显突释,且体外释放仅能维持1周左右;当 PLGA 与 Eudragit RS 100 的质量比为1:3时,虽然在第1天存在突释现象,但是与其他比例下制备的载药微球相比,第1天的突释量少,在随后的一个月时间里体外释放速度慢。

### 3.4 吲哚美辛微球有机溶剂残留量

测得3组样品的平均二氯甲烷残留量为(0.0267  $\pm$  0.00136)%,低于2010年版《中国药典》对二氯甲烷残留的限定。

### 3.5 吲哚美辛微球的表面电荷量

载药微球 Zeta 电位结果见表1。随着载体材料 Eudragit RS 100 比例的增加,空白微球表面的 Zeta 电位为正电荷且呈递增趋势。载药微球是理论载药

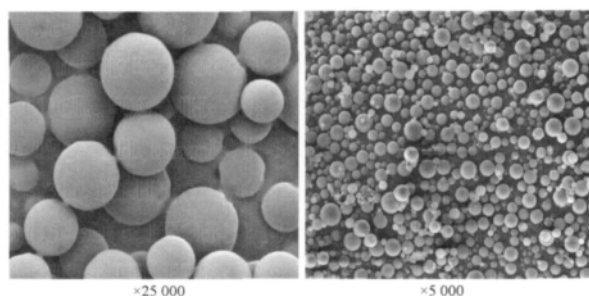


图1 吲哚美辛 PLGA/Eudragit RS 100 微球扫描电镜下的表面形态

Fig.1 SEM image of indomethacin-loaded PLGA/Eudragit RS 100 microspheres

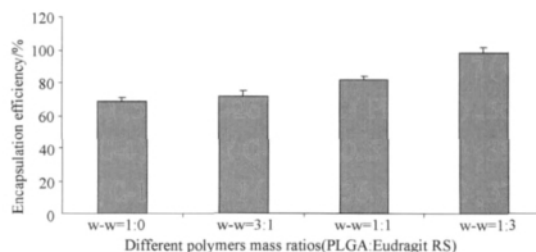


图2 PLGA 和 Eudragit RS 100 不同质量比例对吲哚美辛微球包封率的影响.  $n = 3, \bar{x} \pm s$

Fig.2 Effect of different polymers mass ratios on entrapment efficiency of indomethacin microspheres.  $n = 3, \bar{x} \pm s$

量为 20% 的微球,在相同比例材料下,载药微球表面电荷相对于空白微球表面电荷是下降的。

### 3.6 吲哚美辛微球的粒径分布

眼用微球粒径不能大于 10 μm,否则会产生不适感<sup>[14]</sup>。PLGA 和 Eudragit RS 100 质量比为 1:3 所得载药微球,其平均粒径为(1 676.4 ± 739.5) nm (图 4)。

### 3.7 PLGA/Eudragit RS 100 空白微球的眼用安全性

空白 PLGA/Eudragit RS 微球在培养液中模拟“2.4”中体外释放提到的体外释放条件释放 3 d,最后通过离心得到的浸提液做为考察载体材料的安全性。处于对数生长期的人 RPE 细胞在浸提液中孵育 24 h 后,在 490 nm 波长下检测得到,与阴性对照

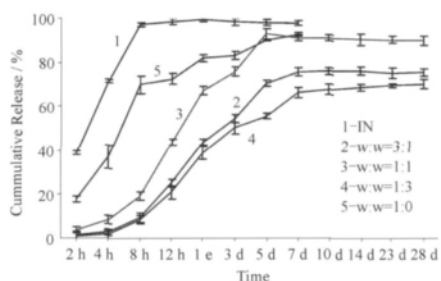


图 3 PLGA 和 Eudragit RS 100 不同质量比例对吲哚美辛微球体外释放的影响.  $n=3 \bar{x} \pm s$

Fig. 3 Effect of different polymers mass ratios on cumulative release of indomethacin microspheres.  $n=3 \bar{x} \pm s$

表 1 不同比例载体材料的空白微球和载药微球的 Zeta 电位比较

Tab. 1 Zeta potential comparison between blank microspheres and drug-loaded microspheres at different polymers mass ratios

PLGA-Eudragit RS 100 (w-w)	Empty group/mV	loaded group/mV
3:1	8.56 ± 1.12	-7.66 ± 2.02
1:1	23.79 ± 1.20	9.77 ± 0.70
1:3	29.90 ± 0.79	9.35 ± 0.81

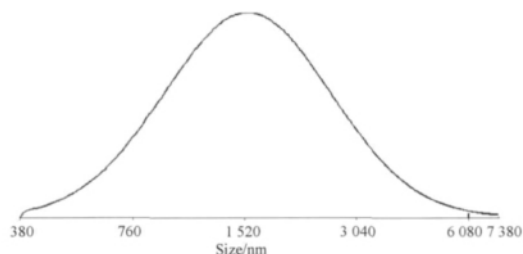


图 4 吲哚美辛 PLGA/Eudragit RS 100 微球的粒径分布图

Fig. 4 Particle size distributions of indomethacin PLGA/Eudragit RS 100 microspheres

A 值相比, RGR = 104%, 细胞毒性级别为 0 级,且两者之间差异没有统计学意义( $t=0.609, P=0.605$ )。

## 4 讨论

早期研究<sup>[15-17]</sup>表明,单独使用 Eudragit RS/RL 100 做为载体材料,虽然包封率高,但存在突释且体外释放时间只能维持 24 h 左右,达不到长期释放的要求。单独使用 PLGA 做为载体材料,虽然体外释放时间长,但存在明显突释,包封率不及 Eudragit RS/RL 100 包封率。由于眼部注射用微球要求具有良好的生物安全性,并能缓慢释放药物,粒径不宜过大,以防止注射时阻塞针孔。同时,应尽量提高载药量,以减少微球注射总重量。因此,本实验采用 PLGA 和 Eudragit RS 100 作为载体材料,PLGA 具有良好的生物相容性、机械性能和生物降解性,经体液水解后可被人体吸收,在药物控释系统中广泛应用<sup>[18]</sup>。Eudragit RS 100 已被用于眼科载体材料<sup>[15]</sup>,它在生理 pH 值下不会溶解,通过自身膨胀作用释放药物,且对眼内组织没有毒性作用。本实验改变载体材料的不同比例优选得出 PLGA 与 Eudragit RS 100 质量比为 1:3,最后通过溶剂挥发法制备吲哚美辛 PLGA/Eudragit RS 100 缓释微球。本实验制备的吲哚美辛缓释微球能够克服早期研究存在的问题,具有包封率高,体外释放时间长,微球表面光滑,粒径小,有机溶剂残留量少等特点。

本实验发现,随着 Eudragit RS 100 在载体材料中比例增加,载药微球的包封率增加,最高可达 98.25%。PLGA 空白微球表面带负电荷<sup>[19]</sup>,随着 Eudragit RS 100 比例的增加,微球表面的 Zeta 电位由负电位变成正电位,同时,随着载药量的提高,微球表面的正电位逐渐降低。这与 Pignatello 等<sup>[15]</sup>的研究一致,Eudragit RS 100 带有含有季铵阳离子基团与吲哚美辛的羧基形成静电结合,在一定程度上阻止了制备过程中药物的丢失,提高了包封率和影响了微球表面的电荷。

吲哚美辛 PLGA/Eudragit RS 100 微球的包封率可达到 98.25%,缓慢释放效果可以维持 1 个月。虽然 PLGA/Eudragit RS 100 微球在 0.5 h 没有突释现象,但是在 24 h 左右体外释放累积率达到 40% 左右,在固化过程中,由于有机相的挥发,仍然存在少部分药物从有机相进入水相,黏附在黏度较大的有机相表面,进一步固化于颗粒表面,虽经过离心洗涤,仍有部分黏附紧密的药物存在于表面。但是,在临床上根据病情情况,吲哚美辛首次给药需要负荷

量载药微球的突释现象在一定程度上可以满足负荷剂量的要求,后续的体外释放浓度能维持一定的有效药物浓度即可,可避免血药浓度波动带来的全身不良反应。

本实验通过溶剂挥发法制备的吲哚美辛微球的平均有机溶剂残留量为 0.026 7%,符合 2010 年版《中国药典》<sup>[20]</sup> 规定的二氯甲烷的残留量限定(0.06%)。微球平均粒径在 1.6  $\mu\text{m}$  左右,早期 Tabata 等<sup>[21]</sup> 研究微球粒径在 1.0 ~ 2.0  $\mu\text{m}$  之间可以被巨噬细胞达到最大程度的吞噬效果,从而更有效地达到治疗效果,虽然该工艺制备的微球的粒径达到被吞噬的要求,但是对于被眼内细胞吞噬达到有效治疗的效果仍需要继续研究。本实验选择了人 RPE 细胞考察该制备工艺下的微球的安全性,通过细胞相对增殖率得到空白 PLGA/Eudragit RS 100 微球对细胞的毒性为 0 级,说明材料本身没有毒性外,在制备过程中也未产生任何毒性的因素。

通过该法制备得到吲哚美辛 PLGA/Eudragit RS 100 缓释微球不具有细胞毒性,包封率高,体外释放时间长,表面光滑圆整,粒径大小与分布均符合眼内注射的要求。

## REFERENCES

- [ 1 ] BAUDOUIN C , NORDMANN J P , DENIS P , et al. Efficacy of indomethacin 0.1% and fluorometholone 0.1% on conjunctival inflammation following chronic application of antiglaucomatous drugs [J]. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* ,2002 ,240( 11 ) : 929-935.
- [ 2 ] FRUCHT-PERY J , SIGANOS C S , SOLOMON A , et al. Topical indomethacin solution versus dexamethasone solution for treatment of inflamed pterygium and pinguecula: a prospective randomized clinical study [J]. *Am J Ophthalmol* ,1999 ,127( 2 ) :148-152.
- [ 3 ] ALLAIRE C , LABLACHE C M , TRINQUAND C , et al. Comparative efficacy of 0.1% indomethacin eyedrops ,0.03% flurbiprofen eyedrops and placebo for maintaining postoperative mydriasis [J]. *J Fr Ophthalmol* ,1994 ,17( 2 ) :103-109.
- [ 4 ] BAUDOUIN C , NORDMANN J P , DENIS P , et al. Efficacy of indomethacin 0.1% and fluorometholone 0.1% on conjunctival inflammation following chronic application of antiglaucomatous drugs [J]. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* ,2002 ,240( 11 ) : 929-935.
- [ 5 ] LI W S , JIANG D Y , DING J G , et al. Indomethacin induced apoptosis in cultured human fetal retinal pigment epithelium cells in vitro [J]. *Rec Adv Ophthalmol* ( 眼科新进展 ) ,2003 ,23 ( 2 ) :90-92.
- [ 6 ] EUGEN BARBU , LILIANA VERESTIUC , THOMAS G , et al. Polymeric materials for ophthalmic drug delivery: trends and perspectives [J]. *J Mater Chem* ,2006 ,16( 34 ) :3439-3443.
- [ 7 ] WEN J , CHEN Z J , LI W S. Pharmacokinety of intravitreous administration of indomethacin [J]. *Chin Ophthal Res* ( 眼科研究 ) ,2006 ,24( 2 ) :129-131.
- [ 8 ] JENQUIN M R , MCGINITY J W. Characterization of acrylic resin matrix films and mechanisms of drug-polymer interactions [J]. *Int J Pharm* ,1994 ,101( 1-2 ) :23-24.
- [ 9 ] CHEN Y , WANG B H , WU D. Pharmaceutical application of polyacrylic resin [J]. *China Pharm* ( 中国药业 ) ,2007 ,16 ( 14 ) :25-27.
- [ 10 ] OTH M P , MOES A J. Sustained release solid dispersions of indomethacin with Eudragit RS and RL [J]. *Int J Pharm* ,1989 ,55( 2-3 ) :157-164.
- [ 11 ] YEN S Y , SUNG K C , WANG J J , et al. Controlled release of nalbuphine propionate from biodegradable microspheres: *in vitro* and *in vivo* studies [J]. *Int J Pharm* ,2001 ,220( 1-2 ) :91-99.
- [ 12 ] ANANCHARUNGSUK W , POLPANICH D , JANGPATARAPONGSA K , et al. *In vitro* cytotoxicity evaluation of natural rubber latex film surface coated with PMMA nanoparticles [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces* ,2010 ,78( 2 ) :328-333.
- [ 13 ] XU G M , ZHANG C X , NING L , et al. Evaluation on the cytotoxicity of Gallium alloy by MTT-assay [J]. *Chin J Stomatol* ( 中华口腔医学杂志 ) ,2001 ,36( 3 ) :28-31.
- [ 14 ] LU B. *New Techniques and New Dosage Forms of Drugs* ( 药物新剂型与新技术 ) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House ,1998:415-433.
- [ 15 ] PIGNATELLO R , BUCOLO C , FERRARA P , et al. Eudragit RS100 nanosuspensions for the ophthalmic controlled delivery of ibuprofen [J]. *Eur J Pharm Sci* ,2002 ,16( 1-2 ) :53-61.
- [ 16 ] ADIBKIA K , JAVADZADEH Y , DASTMALCHI S , et al. Naproxen-eudragit RS100 nanoparticles: preparation and physicochemical characterization [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces* ,2011 ,83( 1 ) :155-159.
- [ 17 ] SINHA V R , TREHAN A. Formulation , characterization , and evaluation of ketorolac tromethamine-loaded biodegradable microspheres [J]. *Drug Deliv* ,2005 ,12( 3 ) :133-139.
- [ 18 ] SHIVE M S , ANDERSON J M. Biodegradation and biocompatibility of PLA and PLGA microspheres [J]. *Adv Drug Deliv Rev* ,1997 ,28( 1 ) :5-24.
- [ 19 ] SHI H J , WEI K , NAN K H , et al. Ofloxacin-loaded PLGA Microcapsules: Preparation , characterization and the factors affecting loading efficiency [J]. *J Mater Sci Eng* ( 材料科学与工程学报 ) ,2009 ,27( 2 ) :282-287.
- [ 20 ] ZHANG S , DENG H , BAI H F , et al. GC Detection of residual dichloromethane in nestorone microspheres [J]. *Chin J Mod Drug* ( 中国现代药物应用 ) ,2009 ,3( 15 ) :282-287.
- [ 21 ] TABATA Y , IKADA Y. Effect of the size and surface charge of polymer microspheres on their phagocytosis by macrophage [J]. *Biomaterials* ,1988 ,9( 4 ) :356-362.

( 收稿日期:2011-11-19)