

氟比洛芬酯眼用纳米乳-离子敏感型原位凝胶的研究

沈锦秋^{1,2}, 甘 勇², 甘 莉², 朱春柳², 朱家璧^{1*}

(1. 中国药科大学, 江苏 南京 210009; 2. 中国科学院上海药物研究所, 上海 201203)

摘要: 设计新型纳米乳-离子敏感型原位凝胶 (nanoemulsion-*in situ* gel, NE-ISG), 以氟比洛芬酯 (flurbiprofen axetil, FBA) 为模型药物, 研究药物在家兔眼部的房水药动学特征, 并对其流变学特征、微观形态、角膜损伤效果和角膜滞留特性等进行了评价。采用剪切均质工艺制备氟比洛芬酯纳米乳 (flurbiprofen axetil nanoemulsion, FBA/NE), 与离子敏感型凝胶材料 (结冷胶) 混合后制得氟比洛芬酯纳米乳-原位凝胶 (flurbiprofen axetil nanoemulsion-*in situ* gel, FBA/NE-ISG)。流变学结果显示, FBA/NE-ISG 发生胶凝后, 黏度和弹性模量分别增加 2 Pa·s 和 5 Pa, 胶凝能力强。透射电镜结果表明, FBA/NE-ISG 中乳滴粒度分布均匀, 胶凝前后无明显变化。角膜损伤评价显示, FBA/NE-ISG 无角膜刺激性。角膜滞留特性评价结果显示, NE-ISG 角膜滞留时间显著延长, NE-ISG 和溶液组的消除速率常数分别为 0.0085 min^{-1} 和 0.1052 min^{-1} 。房水药动学结果显示, FBA/NE-ISG 组 $\text{AUC}_{0\rightarrow12\text{ h}}$ ($126.8\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{min}\cdot\text{mL}^{-1}$) 和 MRT (12.3 h) 分别是氟比洛芬钠滴眼液组 (flurbiprofen sodium eye drop, FB-Na) 的 2.9 倍和 2.7 倍, 眼部生物利用度显著提高。FBA/NE-ISG 能够显著延长药物的眼表滞留时间, 发挥缓释作用, 提高药物的眼部生物利用度, 并有效降低原形药物氟比洛芬 (flurbiprofen, FB) 的眼部刺激性。

关键词: 氟比洛芬酯; 纳米乳; 离子敏感型原位凝胶; 角膜滞留; 房水药动学

中图分类号: R943

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2010) 01-0120-06

Ion-sensitive nanoemulsion-*in situ* gel system for ophthalmic delivery of flurbiprofen axetil

SHEN Jin-qi^{1,2}, GAN Yong², GAN Li², ZHU Chun-liu², ZHU Jia-bi^{1*}

(1. China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China;

2. Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203, China)

Abstract: The aim of the study is to prepare flurbiprofen axetil nanoemulsion-*in situ* gel system (FBA/NE-ISG) and observe its ocular pharmacokinetics, rheological behavior, TEM images, irritation and cornea retention. Production of nanoemulsion was based on high-speed shear and homogenization process, and then mixed with gellan gum to prepare FBA/NE-ISG. Rheological study showed that FBA/NE-ISG possesses strong gelation capacity and its viscosity and elastic modulus increases by 2 Pa·s and 5 Pa respectively when mixed with artificial tear at the ratio of 40 : 7. TEM images suggested no significant changes in particle morphology of the pre and post gelation. Good ocular compatibility of FBA/NE-ISG was testified by the irritation test based on histological examination. *In vivo* fluorescence imaging system was applied to investigate the characteristics of cornea retention, and the results indicated that the nanoemulsion-*in situ* gel (NE-ISG) prolonged the cornea retention time significantly since $K_{\text{NE-ISG}}$ (0.0085 min^{-1}) was much lower compared with flurbiprofen sodium eye drops (FB-Na, 0.03% w/v) of which the $K_{\text{Eye drops}}$ was 0.1052 min^{-1} , indicated that the cornea retention time of NE-ISG was prolonged significantly. Pharmacokinetics of FBA/NE-ISG in rabbit aqueous humor was studied by cornea puncture, the MRT (12.3 h) and $\text{AUC}_{0\rightarrow12\text{ h}}$ ($126.8\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{min}\cdot\text{mL}^{-1}$) of FBA/NE-ISG was 2.7 and 2.9 times higher than that of the flurbiprofen sodium eye drops respectively, which meant that the ocular bioavailability

收稿日期: 2009-09-07.

*通讯作者 Tel: 86-25-85338217, E-mail: Zhujiabi001@yahoo.com

was improved greatly by the novel preparation. Therefore, FBA/NE-ISG can enhance the ocular bioavailability by prolonging drug corneal retention significantly. What's more, encapsulated by emulsion droplets prodrug flurbiprofen (FBA) instead of flurbiprofen (FB) can reduce the ocular irritation.

Key words: flurbiprofen axetil; nanoemulsion; ion-sensitive *in situ* gel; cornea retention; aqueous humor pharmacokinetics

氟比洛芬 (flurbiprofen, FB) 是一种丙酸类非甾体抗炎药物 (NSAIDs), 眼科临床使用的制剂为氟比洛芬钠滴眼液 (flurbiprofen sodium eye drops, FB-Na), 商品名为 Ocufen[®] (0.03%, w/v), 用于抑制内眼手术时缩瞳及术后抗炎。与普通滴眼液类似, 给药后大部分药液因眨眼动作或泪液分泌而被清除^[1], 眼表停留时间较短, 导致药物在眼组织内的吸收有限, 故需频繁用药 (4 次/天); 此外, 有报道^[2]表明 Ocufen[®]具有眼部短暂性烧灼、刺痛感及其他非甾体抗炎药特有的不良反应。

纳米乳作为新型的眼部释药系统, 具有增溶难溶性药物, 提高药物眼部生物利用度的特点^[3]。将纳米乳与离子敏感型凝胶材料 (Gelrite[®]) 结合应用, 一方面可以实现难溶性药物的增溶并获得良好的眼部生理耐受性; 另一方面, 离子敏感型凝胶在与泪液作用后发生胶凝^[4], 能更有效地延长药物眼表滞留时间, 从而减少给药次数, 达到缓释效果。

在本研究中, 以酯型药物氟比洛芬酯 (flurbiprofen axetil, FBA) 替代 FB 用于眼部给药, 羧基得到保护^[5], 可以减小药物的眼部刺激性。FBA 进入角膜后, 由体内的酯酶迅速代谢生成原形药物 FB^[6], 并扩散进入房水发挥抗炎作用。目前, 国内外 FBA 主要采用静注途径获得镇痛效果^[7, 8], 将其应用于眼部炎症治疗尚未见到报道。

本研究制备了氟比洛芬酯纳米乳-原位凝胶 (flurbiprofen axetil nanoemulsion-*in situ* gel, FBA/NE-ISG), 对其理化性质进行了表征, 并以 FB-Na 滴眼液为对照, 进行了家兔角膜滞留、房水药动学和角膜上皮细胞损伤效果评价。

材料与方法

仪器 动态光散射粒径测定仪 (Nicomp 388/Zeta PALS, PSS 公司, 美国); 高压均质机 (Panda 2000, GEA Niro Soavi S.P.A. 公司, 意大利); 旋转流变仪 (ARES 应变控制流变仪, TA 公司, 美国); 透射电子显微镜 (JEM-1230, JEOL 公司, 日本); 小动物活体荧光成像系统 (Fx Pro In-Vivo Imaging System, Kodak 公司, 美国); HP1100 高效液相色谱系统 (包

括 G1311A 四元泵, G1379A 在线脱气机, G1328B 手动进样器, G1314A VWD 检测器, 数据处理色谱工作站: HPChemstation Rev.A.10.01, Agilent 公司, 美国)。

药品与试剂 氟比洛芬酯 (FBA, 上海三维制药有限公司合成, 批号: 080426); 氟比洛芬 (FB, 上海三维制药有限公司合成, 批号: 050226); 结冷胶 (Gelrite[®], CP Keclo[®], 上海虹久企业发展公司, 批号: 20050929); 氟比洛芬钠滴眼液 (FB-Na, 0.03%, w/v, 按市售制剂 Ocufen[®] 处方自制^[9], 批号: 090515); 戊巴比妥钠 (上海西唐生物科技有限公司, 批号: 20080615); 蓖麻油 (湖北科田药业有限公司, 批号: 060403); 甘油 (湖南尔康制药有限公司, 批号: 20080533); 乙腈、甲醇 (色谱纯, Tedia Company Inc., 美国), 实验用水为去离子水, 其他试剂均为国产分析纯。

人工泪液: 将 NaCl 6.78 g, KCl 1.38 g, NaHCO₃ 2.18 g, CaCl₂·2H₂O 0.084 g 定容于 1 L 去离子水中。

动物 新西兰白兔, 雌雄皆有, 体重 (2.5 ± 0.5) kg, 中国科学院上海药物研究所实验动物中心提供。(19 ± 1) °C, (50 ± 5) % RH, 光照下于标准笼中饲养, 同时标准饮食, 任意饮水。

FBA/NE-ISG 的制备 采用剪切均质工艺制备 FBA/NE-ISG。将处方量的蓖麻油 (5%, w/v), Tween-80 (4%, w/v), 甘油 (2%, w/v), FBA (0.1%, w/v, 以同摩尔数的 FB 计) 混合均匀, 加热到 70 °C 作为油相; 另将处方量的水加热到 70 °C 作为水相。

将水相缓慢加入油相中, 12 000 r·min⁻¹ 高速剪切 10 min 制得初乳; 再将初乳转移至预热到 40 °C 的高压均质机中, 1 000/100 bar 均质 8 遍, 即得氟比洛芬酯纳米乳 (flurbiprofen axetil nanoemulsion, FBA/NE)。准确称取处方量的山梨酸 (0.1%, w/v) 和结冷胶 (0.6%, w/v), 边搅拌边缓慢加入上述纳米乳中, 待混合均匀后用三羟甲基氨基甲烷调节 pH 至生理可接受范围内 (pH 6.0~8.0), 得到 FBA/NE-ISG, 室温放置备用。

FBA/NE-ISG 流变学特性考察 将 FBA/NE-ISG 与不同比例的人工泪液混合均匀, 加入同轴圆筒 C25 (25 mm) 中。分别采用静态模式和动态模式测定样品

的黏度 (η) 和弹性模量 (G')。

FBA/NE-ISG 形态考察 采用磷钨酸负染法, 通过透射电镜观察 FBA/NE-ISG 胶凝前后的形态及粒径分布情况。

病理切片评价角膜损伤性^[10] 耳缘静脉注射空气将家兔处死后立即取下眼球, 去除脂肪、肌肉等附属物后冲洗干净。分别浸泡于磷酸盐缓冲液 (phosphate buffer, PBS, pH 7.4)、十二烷基硫酸钠-磷酸盐缓冲液 (sodium dodecylsulfate solution-PBS, SDS-PBS, 0.1%, w/v)、FB-Na 滴眼液 (0.03%, 0.1%, w/v)、FBA/NE (0.1%, w/v)、FBA/NE-ISG (0.1%, w/v) 中, 37 °C 水浴孵育 30 min 后取出, 用生理盐水冲洗干净, 8% 福尔马林固定, 制作苏伊 (haematoxyline and eosine, HE) 染色石蜡切片。

活体成像评价角膜滞留性 以荧光素钠、荧光素为探针, 制备溶液剂 (按照市售制剂 Ocufer[®] 处方自制)、纳米乳和纳米乳-原位凝胶 (nanoemulsion-*in situ* gel, NE-ISG) 3 组制剂 (荧光物质浓度均为 0.03%, w/v), 并随机分配家兔, 每组 3 只。分别于清醒家兔结膜囊内给予上述制剂各 50 μ L, 强制闭眼 10 s。于 0、0.5、1、1.5、2、3 和 4 h 用戊巴比妥钠 (30 mg·kg⁻¹) 麻醉家兔, 置于成像系统暗箱内拍摄并记录图像, 利用该成像系统自带软件提取所得图像中背景区域、角膜区域以及制剂初始荧光强度的数值, 分别记为 A, B, C, 角膜区域的净增荧光强度百分数用公式 (1) 计算:

$$\text{Fluorescence intensity} = \frac{B-A}{C} \times 100\% \quad (1)$$

角膜穿刺法测定房水药动学 FB-Na 滴眼液 (0.03%, w/v)、FBA/NE (0.1%, w/v) 和 FBA/NE-ISG (0.1%, w/v) 3 组制剂随机分配家兔, 每个时间点包括 3 只兔眼的的数据。分别于清醒家兔结膜囊内给予上述制剂各 50 μ L, 强制闭眼 10 s。于给药后 0.5、1、1.5、2、3、4、5、6、8、10 和 12 h 麻醉家兔, 纯化水冲洗眼表, 用 1 mL 无菌注射器从上方角膜缘刺入前房, 抽取房水适量, 立即用 HPLC 检测 (FBA 在角膜中发生代谢, 生成原形药物 FB 进而透过角膜进入房水, 因而以房水中 FB 作为 HPLC 的检测对象)。用 *t* 检验对各药动学参数进行统计学分析。

结果

1 FBA/NE 及 FBA/NE-ISG 理化性质表征

取样品适量, 测定乳滴的平均粒径和分散系数 (polydispersity index, PI)、制剂 pH、渗透压、黏度和包封率 (encapsulation efficiency, EE%) 等参数,

各参数如表 1。

2 FBA/NE-ISG 流变学特性

FBA/NE-ISG 与不同比例人工泪液混合后的流变学变化曲线分别见图 1 和图 2。结果表明, 人工泪液的加入可明显提高胶凝后制剂的黏度 (η) 和弹性模量 (G')。正常眼表泪液量约为 7 μ L, 当 FBA/NE-ISG 与人工泪液以 40:7 的比例混合时, η 和 G' 比胶凝前制剂分别提高约 2 Pa·s 和 5 Pa; 当混合比例达到 40:14 及更高比例 (40:32) 时, 上述流变学参数继续提高, 可见 FBA/NE-ISG 具有良好的离子敏感型胶凝能力。

Table 1 Characteristics of different dosage forms

Parameter	FBA/NE	FBA/NE-ISG
Particle size / nm	184.2	174.8
PI	0.203	0.234
EE / %	98.8	99.7
pH	6.96	7.17
Osmotic pressure / osmol·kg ⁻¹	0.302	0.313
Viscosity / mPa·s	0.8	52.0

FBA/NE: Flurbiprofen axetil nanoemulsion; FBA/NE-ISG: Flurbiprofen axetil nanoemulsion-*in situ* gel system; PI: Polydispersity index

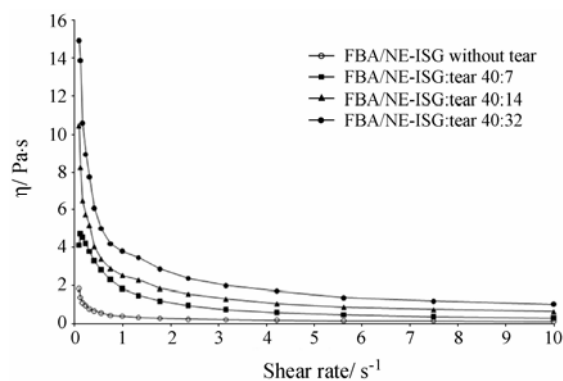


Figure 1 Effect of different ratio of FBA/NE-ISG and artificial tear on viscosity

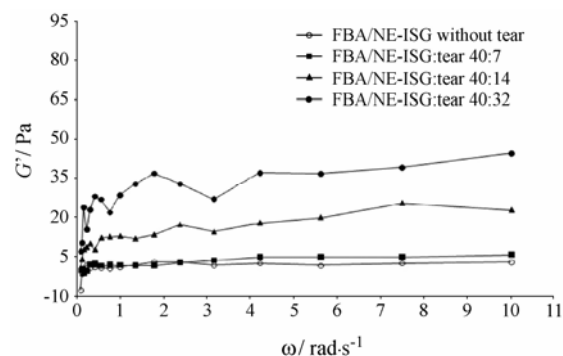


Figure 2 Effect of different ratio of FBA/NE-ISG and artificial tear on elastic modulus (G')

3 透射电镜特征

FBA/NE-ISG 发生胶凝前后的透射电镜照片见图 3。由图中可见, FBA/NE 呈椭球形, 粒度分布均匀, 平均在 160 nm 左右, 与粒度仪测得结果基本一致; 结冷胶分子以丝状型式溶解于制剂中, 间接起到了稳定纳米乳的作用。比较 FBA/NE-ISG 与人工泪液以 40:7 比例混合发生胶凝前后的 TEM 图, 乳滴未见明显变化, 说明 FBA/NE-ISG 发生胶凝作用仅是结冷胶分子由双螺旋结构向三维网状结构转变的结果^[1], 该作用不会破坏纳米乳结构。

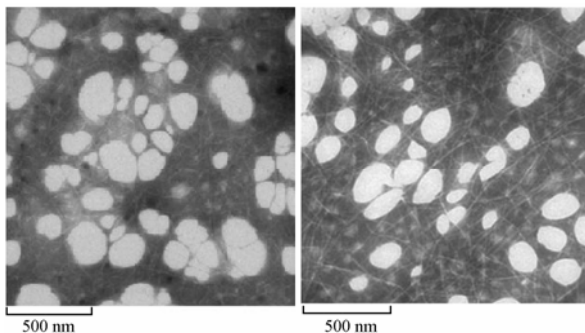


Figure 3 TEM images of FBA/NE-ISG (left) and FBA/NE-ISG with artificial tear (40:7) (right)

4 角膜损伤性结果

病理切片可用于制剂对角膜上皮细胞结构以及组织完整性的影响评价。图 4 的 HE 染色切片显示, 与 PBS (阴性对照) 和 SDS-PBS (阳性对照) 比较, 低浓度 FB-Na 滴眼液组 (0.03%, w/v, 图 4C) 中角膜上皮细胞结构完整性略见破坏; 提高 FB 浓度 (0.1%, w/v), 角膜上皮细胞结构破坏情况更为明显 (图 4D)。上述结果说明, FB 具有一定的角膜上皮细胞损伤效果, 且损伤效果随其浓度增加而增加。而具有相同药物浓度的 FBA/NE 和 FBA/NE-ISG 组 (0.1%, w/v, 图 4E, F) 则显示角膜结构完整, 表面由鳞状上皮覆盖并无坏死脱落, 上皮结缔组织结构清晰完好, 未见炎症细胞浸润, 安全性良好。

5 活体成像评价制剂角膜滞留特性

角膜滞留经时曲线 (图 5) 结果显示, 由于眨眼和泪液清除作用, 药物在眼表的消除符合一级动力学特征。溶液组在给药后被迅速消除, 30 min 内荧光强度降至 5% 左右, 速率常数 $K_{\text{eye drops}}$ 为 0.1052 min^{-1} ; 原位凝胶组荧光强度消除显著减慢, 速率常数 $K_{\text{NE-ISG}}$ 为 0.0085 min^{-1} , 其荧光强度始终高于纳米乳和溶液组, 给药后 0~90 min 内, 平均荧光强度维持在 80% 左右, 至 240 min 时 NE-ISG 组荧光强度仍分别是溶

液组和纳米乳组的 9 倍和 2 倍左右。提示 NE-ISG 组可显著减缓药物眼表的清除, 延长角膜滞留时间。

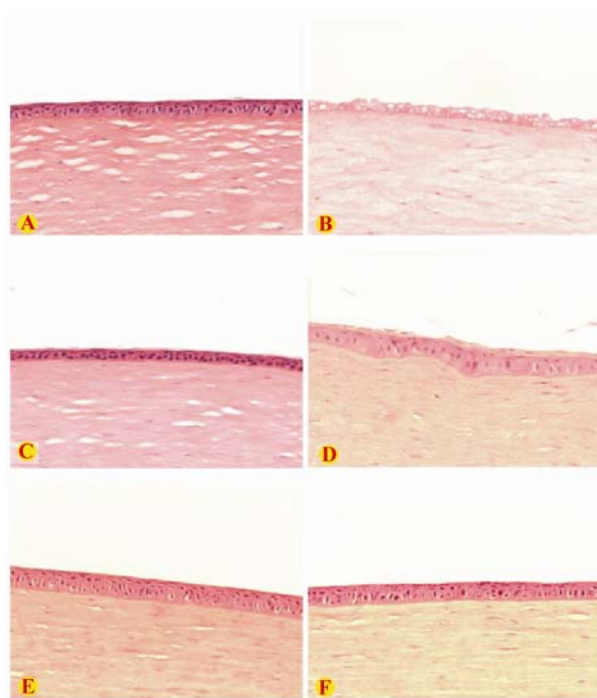


Figure 4 Histological examination of excised rabbit cornea, stained with HE after incubation at 37 °C ($\times 400$). A: PBS; B: SDS-PBS (0.1%, w/v); C: FB-Na (0.03%, w/v); D: FB-Na (0.1%, w/v); E: FBA/NE (0.1%, w/v); F: FBA/NE-ISG (0.1%, w/v)

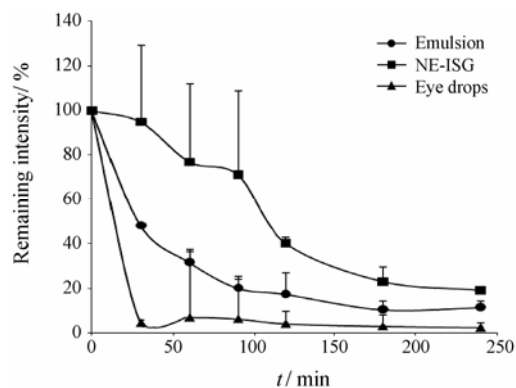


Figure 5 Curves of cornea retention of different dosages ($n=3$)

6 角膜穿刺考察房水药动力学

各制剂房水药动力学经时曲线如图 6, 表 2 中各药动学主要参数由对数梯形法计算得到。FB-Na 滴眼液 (0.03%, w/v) 在给药后 1.5 h (T_{max}) 左右达到 C_{max} ($0.178 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), MRT 约为 4.6 h。由于缓释作用, FBA/NE-ISG 组的 T_{max} (4.0 h) 比 FB-Na 滴眼液组和 FBA/NE 组显著延长, MRT (12.3 h) 比 FB-Na 滴眼液组延长约 2.7 倍, $\text{AUC}_{0\rightarrow 12\text{h}}$ 提高为 FB-Na 滴眼液组的 2.9 倍。比较以上结果发现, 本文设计的纳米乳-离子

敏感型凝胶载体可以显著提高 FBA 的眼部生物利用度, 且具有良好的缓释特征。

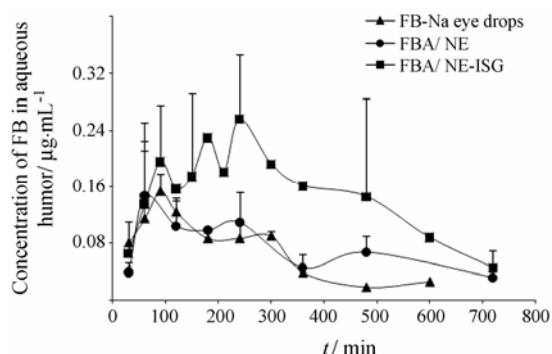


Figure 6 Concentration-time curves in aqueous humor after topical application of different dosages ($n = 3$)

Table 2 The main pharmacokinetic parameters in aqueous humors after topical application of FB-Na eye drops, FBA/NE and FBA/NE-ISG to the rabbit eyes ($n = 3$)

Parameter	FB-Na eye drop	FBA/NE	FBA/NE-ISG
FB /%, w/v	0.03	0.1	0.1
T_{max} /h	1.5	1.0	4.0*
C_{max} / $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	0.178 ± 0.009	0.16 ± 0.07	$0.257 \pm 0.096^{**}$
$T_{1/2}$ /h	3.20 ± 0.19	5.4 ± 2.1	8.5 ± 1.6
MRT /h	4.6 ± 0.3	7.1 ± 3.8	12.3 ± 2.3
$AUC_{0 \rightarrow 12\text{h}}$ / $\mu\text{g}\cdot\text{min}\cdot\text{mL}^{-1}$	43.2 ± 6.9	58.1 ± 17.1	$126.8 \pm 7.5^{**}$

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs FB-Na eye drops

讨论

本文以 FBA 为模型药物, 设计了离子敏感型原位凝胶系统^[12], 并着重对该系统的角膜滞留、房水药动学和角膜上皮细胞损伤效果等进行了研究。

据临床报道, NSAIDs 一般在使用时存在短暂性灼烧和刺痛感^[13], 常规眼表刺激性评价方法 (如 Draize 法) 无法真实快速地反映出此类制剂在长期应用后的眼表刺激性及对眼组织细胞损伤情况。此外, 由于 FBA/NE-ISG 具有强胶凝效果及生物黏附性, 用 Draize 法评价时易得出分泌物增多的假阳性结果, 故本研究参考相关文献采用病理切片法对制剂的角膜刺激性进行了评价。观察病理切片发现, 在相同的孵育条件下, FB-Na 滴眼液组的角膜上皮细胞损伤效果随 FB 浓度增加而加剧; FBA/NE 和 FBA/NE-ISG 组病理切片显示相同药物浓度下角膜结构均完好, 说明纳米乳将药物包裹在乳滴中后, 可以降低药物刺激性^[5], 同时也说明凝胶材料 (Gelrite®) 生物相容性良好^[11]。

流变学结果显示, FBA/NE-ISG 与人工泪液以 40 : 7 常规比例混合后具有较强的胶凝能力, 其黏度

和弹性模量随着人工泪液加入量的增加而提高, 该特性有助于提高药物在眼表的黏附而减缓制剂的眼部清除。进一步家兔角膜滞留特性评价结果显示, NE-ISG 组在给药后的 1.5 h 内荧光强度始终保持在 80%, 4 h 后的荧光强度消除至 20%, 约是溶液组的 9 倍, 具有良好的增强药物眼表滞留的效果, 可实现药物在眼表的持续释放。

角膜是药物吸收的主要屏障, 提高眼部用药生物利用度的主要途径有: 促进药物角膜透过或延长药物角膜滞留时间。FBA/NE-ISG 与泪液作用后可在眼表形成凝胶, 其良好的黏附性使得 FBA/NE-ISG 的角膜滞留时间显著延长, 有利于药物持续地扩散进入角膜, 经过角膜内的酶解作用生成 FB 扩散进入房水^[6]。房水药动学数据显示, FBA/NE-ISG 的 $AUC_{0 \rightarrow 12\text{h}}$ 是 FB-Na 滴眼液的 2.9 倍, 眼部生物利用度显著提高; FBA/NE-ISG 的 MRT (12.3 h) 约是 FB-Na 的 2.7 倍, 缓释效果明显, 临床用药次数可能由原来的 4 次/日减少至 2 次/日。此外, 药动学经时曲线图提示房水内 FB 浓度能平稳维持较长时间, 这有利于眼部术后抗炎治疗。

综上, FBA/NE-ISG 具有降低药物眼部刺激性及持续缓慢释药两大特点, 能有效提高临床使用的顺应性并减少用药次数。此外, FBA/NE-ISG 的强胶凝能力, 给药剂量准确, 用药方便^[14]等优势预示纳米乳-离子敏感型原位凝胶是一种应用前景广阔的新型眼用释药系统。

References

- [1] Urtti A, Pipkin JD, Rork G, et al. Controlled drug delivery devices for experimental ocular studies with timolol. Ocular and systemic absorption in rabbits [J]. *Int J Pharm*, 1990, 61: 241-249.
- [2] Goold Health Systems. Therapeutic class review: ophthalmic NSAIDs [R]. Wyoming Pdlac: Goold Health Systems, 2009.
- [3] Ma SW, Gan Y, Gan L, et al. Preparation and *in vitro* corneal retention behavior of novel cationic microemulsion / *in situ* gel system [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2008, 43: 749-755.
- [4] Carlfors J, Edsman K, Petersson R, et al. Rheological evaluation of Gelrite® *in situ* gels for ophthalmic use [J]. *Eur J Pharm Sci*, 1998, 6: 113-119.
- [5] Malgorzata S, Katarzyna Z, Stanislaw J. et al. Miotic effect and irritation potential of pilocarpine prodrug incorporated into a submicron emulsion vehicle [J]. *Int J Pharm*, 1999, 184: 115-120.
- [6] van Sorge AA. Reflections on Flurbiprofen Eyedrops [D].

- The Netherlands: University of Groningen, 2002.
- [7] Yoshitaka F, Michiyo I. Comparison of lidocaine, metoclopramide, and flurbiprofen axetil for reducing pain on injection of propofol in janpanese adult surgical patients: a prospective, randomized, double-blind, parallel-group, placebo-controlled study [J]. Clin Ther, 2008, 30: 280–286.
- [8] Wang FZ, Shen XF, Xu SQ, et al. Preemptive combined preventive delivery of flurbiprofen axetil produced effective analgesia after lumpectomy [J]. Acute Pain, 2008, 10: 65–71.
- [9] Allergan Inc. Ocufen® [EB/OL]. New Hampshire Ave: U.S. Food and Drug Administration, 2003, 2: 3–5 [2009-09-05]. http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2003/19404scp020_ocufen_lbl.pdf
- [10] Luma B, Pascal F, Robert G, et al. New surface-active polymers for ophthalmic formulations: evaluation of ocular tolerance [J]. Eur J Pharm Biopharm, 2004, 58: 169–175.
- [11] Meng YC, Hong LB, Chen B, et al. Gelation properties and application of the gellan gum [J]. China Food Additives (中国食品添加剂), 2006, C00: 63–66.
- [12] Wei G, Xu H, Zheng JM. *In situ* gels: the mechanism of formation and its application in controlled-release drug delivery [J]. Chin Pharm J (中国药学杂志), 2003, 38: 564–568.
- [13] Zhu GH, Wang QZ, Cai CQ, et al. Research progress in the use of NSAIDs in ophthalmology [J]. Chin J Optom Ophthalmol (眼视光学杂志), 2009, 11: 157–160.
- [14] Durrani AM, Farr SJ, Kellaway IW. Influence of molecular weight and formulation pH on the precorneal clearance rate of hyaluronic acid in rabbit eye [J]. Int J Pharm, 1995, 118: 243–250.