

## 关节腔注射塞来昔布微球对大鼠类风湿性关节炎的治疗作用

樊万君<sup>1</sup>, 张佳音<sup>1</sup>, 王宸<sup>1</sup>, 张自强<sup>2</sup>, 何淑旺<sup>3</sup>, 姚静<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>中国药科大学药学院, 南京 210009; <sup>2</sup>南京恒泽医药技术开发有限公司, 南京 210046;  
<sup>3</sup>山东达因海洋生物制药股份有限公司, 荣成 264300)

**摘要** 考察关节腔注射塞来昔布(CEL)聚乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA)微球对大鼠类风湿性关节炎的治疗作用。以PLGA为载体,采用O/W乳化溶剂挥发法制备塞来昔布微球(CEL-MS)。采用完全弗氏佐剂诱导佐剂型关节炎(AA)大鼠模型,以大鼠足跖肿胀度、关节炎指数、脾脏指数和关节滑膜组织病理学检查作为治疗效果的指标,考察关节腔注射CEL-MS对大鼠类风湿性关节炎的治疗作用。结果显示,微球的形态圆整、表面光滑,平均粒径为 $(2.1 \pm 0.3)\mu\text{m}$ 、载药量为 $(20.8 \pm 0.6)\%$ 。体内药效实验结果显示,与灌胃给予塞来昔布混悬液和关节腔注射塞来昔布混悬液相比,在关节炎大鼠关节腔中注射CEL-MS可显著降低关节肿胀和关节炎指数,有效抑制滑膜炎症。以上结果表明,关节腔注射CEL-MS对大鼠类风湿性关节炎具有良好的治疗作用。

**关键词** 塞来昔布;微球;类风湿性关节炎;关节腔注射

**中图分类号** R944;R965    **文献标志码** A    **文章编号** 1000-5048(2021)05-0573-06

doi: 10.11665/j.issn.1000-5048.20210509

引用本文 樊万君, 张佳音, 王宸, 等. 关节腔注射塞来昔布微球对大鼠类风湿性关节炎的治疗作用[J]. 中国药科大学学报, 2021, 52(5):573-578.

Cite this article as: FAN Wanjun, ZHANG Jiayin, WANG Chen, et al. Therapeutic effect of celecoxib-loaded microspheres on rheumatoid arthritis in rats after intra-articular injection[J]. J China Pharm Univ, 2021, 52(5):573-578.

## Therapeutic effect of celecoxib-loaded microspheres on rheumatoid arthritis in rats after intra-articular injection

FAN Wanjun<sup>1</sup>, ZHANG Jiayin<sup>1</sup>, WANG Chen<sup>1</sup>, ZHANG Ziqiang<sup>2</sup>, HE Shuwang<sup>3</sup>, YAO Jing<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>School of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009; <sup>2</sup>Nanjing Zeheng Pharmaceutical Technology Development Co.,Ltd, Nanjing 210046; <sup>3</sup>Shandong Dyne Marine Biopharmaceutical Co.,Ltd, Rongcheng 246300, China

**Abstract** This study sought to assess the therapeutic effect of celecoxib (CEL)-loaded polyactic acid-glycolic acid copolymer (PLGA) microspheres on rheumatoid arthritis in rats after intra-articular injection. The celecoxib-loaded microspheres (CEL-MS) were prepared by the O/W solvent volatilization method with PLGA as carrier. In order to investigate the therapeutic effect of CEL-MS on rheumatoid arthritis in rats after intra-articular injection, a rat model of adjuvant arthritis (AA) was constructed by complete Freund's adjuvant, and the evaluation indicators of the therapeutic effect were rat paw swelling, arthritis index, spleen index and joint synovial histopathological examination. The results showed that the microspheres had a smooth spherical morphology with a particle size of  $(2.1 \pm 0.3)\mu\text{m}$  and a drug loading efficiency of  $(20.8 \pm 0.6)\%$ . The results of the *in vivo* efficacy test showed that intra-articular injection of CEL-MS compared to the CEL suspension oral and the celecoxib suspension intra-articular injection in adjuvant arthritis rat model can significantly reduce joint swelling and arthritis index, thus effectively inhibiting synovial inflammation. The above results indicate that intra-articular injection of CEL-MS has a good therapeutic effect on rheumatoid arthritis in rats.

**Key words** celecoxib; microspheres; rheumatoid arthritis; intra-articular injection

This study was supported by the National Science and Technology Major Project (No. 2018ZX09721003-007-005)

类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种慢性炎症性自身免疫性疾病,病变关节主要表现为炎性细胞浸润、滑膜增生、血管翳的形成以及由此引发的软骨和骨损伤<sup>[1]</sup>。新型非甾体抗炎药塞来昔布(celecoxib, CEL)常用于骨关节炎和类风湿性关节炎<sup>[2-4]</sup>。然而,CEL只有口服剂型,口服后到达关节部位的药物浓度通常较低,且RA是慢性疾病,长期服用这类药物会导致胃肠道、心血管和肾脏不良反应的风险增加<sup>[5]</sup>。此外,CEL溶解度较低,灌胃后吸收情况有差异,存在3~4 h的作用延迟<sup>[6]</sup>。为解决以上问题,本研究选择CEL作为治疗药物,以关节腔注射的方式治疗类风湿性关节炎。

关节内注射(intra-articular, IA)治疗药物常被作为治疗关节疾病的方法,该方法可将药物直接作用于炎性部位,提高局部药物浓度,减少药物的全身暴露。然而,传统的关节内注射的主要缺点是药物从关节部位的快速清除,这就需要频繁的注射,以保持有效的药物浓度<sup>[7]</sup>。因此,延长药物在关节部位的停留时间至关重要。

因此,本研究应用关节腔注射塞来昔布微球(celecoxib-loaded microspheres, CEL-MS)治疗类风湿性关节炎,以减少CEL全身给药带来的不良反应,延长药物在关节腔的保留时间,提高疗效。本研究采用完全弗氏佐剂诱导佐剂型关节炎(adjuvant-induced arthritis, AA)大鼠模型,考察关节腔注射CEL-MS对类风湿性关节炎的治疗效果,以期为CEL-MS结合关节腔注射提高类风湿性关节炎的治疗效果提供科学依据。

## 1 材 料

### 1.1 试 剂

CEL原料药(上海萨恩化学技术有限公司,纯度98%,批号GL190103);PLGA7525(德国赢创工业集团,型号:RESOMER RG 752H,批号D160800550);聚乙烯醇(上海国药集团化学试剂有限公司,批号20190620);完全弗氏佐剂(美国Sigma公司,批号SLCC6223);灭火卡介苗佐剂(上海瑞楚生物科技有限公司);西葆乐(美国辉瑞制药有限公司,批号CM2806);水合氯醛(上海凌峰化学试剂有限公司,批号20171204);其他试剂均

为市售分析纯。

### 1.2 仪 器

XHF-DY高速分散器(宁波新芝生物科技股份有限公司);BSA124S电子天平(德国赛多利斯科学仪器有限公司);85-1A磁力搅拌器(南京科尔仪器设备有限公司);TU-1810紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司);SU8200高分辨冷场扫描电子显微镜(日本日立高新技术公司);90Plus Zeta电位粒度分析仪(美国布鲁克海文仪器公司)。

### 1.3 动 物

SPF级雄性SD大鼠,6周龄,体重(180±10)g,购自常州卡文斯实验动物有限公司,动物生产许可证号:SCXK2018-0006,适应性饲养1周后用于实验。所有动物实验均符合动物伦理委员会标准。

## 2 方 法

### 2.1 CEL-MS的制备

采用O/W乳化溶剂挥发法制备CEL-MS<sup>[8]</sup>。精密称取PLGA7525 0.18 g, CEL 60 mg溶于二氯甲烷3 mL中作为有机相,缓慢滴入连续搅拌的20 mg/mL PVA水相中,使用高速分散器室温下7 000 r/min乳化5 min后,向上述乳剂中倒入纯水50 mL,搅拌挥发一定时间后,3 000 r/min离心分离微球,纯水洗涤3次,冷冻干燥后得CEL-MS。

### 2.2 CEL-MS的表征

2.2.1 粒径测定 精密称取CEL-MS 2 mg分散于纯化水5 mL中,用Zeta电位粒度分析仪测量微球的粒径。

2.2.2 扫描电子显微镜(SEM)观察 取干燥微球适量,使用导电胶将其固定在铜板上,金粉涂覆导电进行扫描并拍照,观察微球大小、形状和表面形态。

2.2.3 载药量和包封率的测定 精密称取CEL-MS 5 mg,置于5 mL量瓶中,加入乙腈使其完全溶解后,乙腈定容。将上述溶液用乙腈稀释25倍,以252 nm作为CEL的检测波长,采用紫外-分光光度法测定药物含量。计算载药量和包封率:载药量(%)=微球中药物质量/微球总重×100,包封率(%)=微球中药物质量/投药量×100。

### 2.3 药效实验

2.3.1 AA 大鼠模型的建立 完全弗氏佐剂的制备:将质量浓度为 1 mg/mL 的完全弗氏佐剂 5 mL 放入无菌研钵,按一个方向边研磨边加入灭活卡介苗 45 mg, 磨毕置 4 ℃冰箱过夜, 制成质量浓度为 10 mg/mL 的完全弗氏佐剂。

AA 大鼠模型的建立:大鼠腹腔注射 10% 水合氯醛 (3 mL/kg) 麻醉后,于大鼠右后足垫皮下注射弗氏完全佐剂 100  $\mu$ L<sup>[9]</sup>。注射后将大鼠放回原笼, 24 h 后观察关节炎症状。给予完全弗氏佐剂当天记为第 0 天。

2.3.2 实验动物分组及给药方案 将 SD 大鼠随机分为 5 组:正常组、AA 模型组、CEL 关节腔注射组、CEL 灌胃组、CEL-MS 关节腔注射组, 每组 5 只。正常组不做任何处理, 其余 4 组大鼠按照“2.3.1”项建立 AA 大鼠模型。AA 模型组造模后不进行治疗, CEL 关节腔注射组和 CEL-MS 关节腔注射组在造模 1 d 后于大鼠右后踝关节腔分别注射 CEL 混悬液或 CEL-MS 混悬液 50  $\mu$ L, 给药剂量为 1.2 mg/只, 每 7 天给药 1 次, 连续给药 4 次; CEL 灌胃组在造模 1 d 后灌胃 CEL 混悬液, 给药剂量为 18 mg/kg, 每日一次, 连续给药 28 d。实验期间观察大鼠饮食、排便、毛发光泽、行走步态和踝关节外观, 并每 4 天测量大鼠体重。于造模前和造模后每 4 天测量大鼠足跖厚度, 并计算足跖肿胀度: 肿胀度 (%) = (测量时间点的足跖厚度 - 初始厚度) / 初始厚度  $\times$  100。造模后每 4 天评估大鼠关节炎指数, 评分标准如下<sup>[10]</sup>: “0” 无症状; “1” 轻度小趾关节红斑或轻度肿胀; “2” 中度趾关节或趾跖关节肿胀; “3” 踝关节以下的足爪肿胀; “4” 包括踝关节在内全部足爪肿胀。

2.3.3 大鼠脾指数的计算 大鼠给药 28 d 后, 麻醉后处死大鼠, 打开腹腔, 取出完整的脾, 快速称重, 计算大鼠的脾指数: 脾指数 = 脾质量 (mg) / 大鼠体重 (g)。

2.3.4 踝关节滑膜组织病理学检查 大鼠给药 28 d 后, 麻醉后处死大鼠, 剥离切取右后足踝关节滑膜组织, 置于 4% 中性甲醛溶液中固定备用。将组织常规梯度乙醇脱水、石蜡包埋、切片, 并进行苏木精-伊红 (HE) 染色, 显微镜观察滑膜组织的病理变化。

### 3 结果与讨论

#### 3.1 CEL-MS 的表征

采用 O/W 乳化溶剂挥发法制备 CEL-MS。微球 SEM 结果见图 1, 微球平均粒径为  $(2.1 \pm 0.3)$   $\mu$ m, 平均载药量为  $(20.8 \pm 0.6)\%$ , CEL-MS 的整体成球性良好, 粒径相对均匀, 单个球的形态无明显差异。

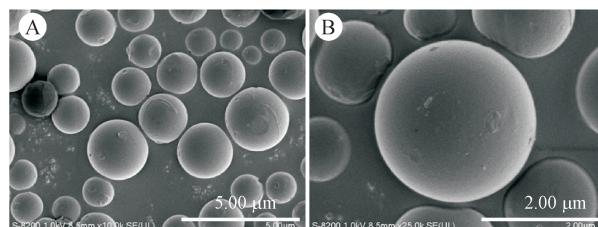


Figure 1 SEM images of celecoxib-loaded microspheres (CEL-MS)

A: Scale bar: 5  $\mu$ m; B: Scale bar: 2  $\mu$ m

#### 3.2 大鼠行为观察及体重测定

如图 2 所示, 各组大鼠的体重变化无显著性差异。治疗结束后各组大鼠足爪外观见图 3, 结果显示, 正常组大鼠足爪以及踝关节呈正常健康状态, AA 模型组大鼠的足爪和踝关节严重肿胀, 足爪僵硬变形, 踝关节及足爪皮肤出现溃烂和结痂, 符合类风湿性关节炎的体外特征。CEL-MS 关节腔注射组大鼠的足爪及踝关节基本无肿胀, 足爪关节未发生变形, 踝关节和足爪表面也未见溃烂和血痂, 其他各治疗组均表现出不同程度的肿胀。结果表明 CEL-MS 关节腔注射组产生了明显的抗炎作用, 有效缓解了症状, 并且其抗炎作用优于 CEL 灌胃组和 CEL 关节腔注射组。

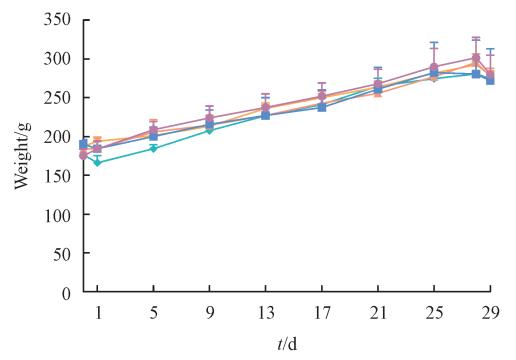


Figure 2 Effects of celecoxib on the body weight of adjuvant arthritis (AA) rats ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

CEL OA: Oral administration of celecoxib suspension; CEL IA: Intra-articular injection of celecoxib suspension; CEL-MS IA: Intra-articular injection of CEL-MS

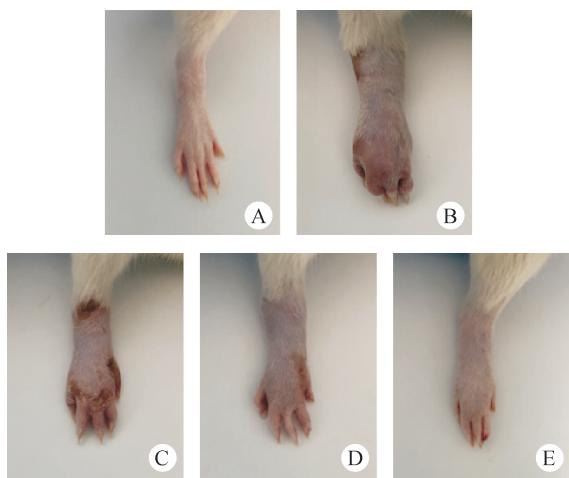


Figure 3 Appearance of AA rats' feet after 28 days of treatment with celecoxib

A: Normal; B: Model; C: CEL OA; D: CEL IA; E: CEL-MS IA

### 3.3 大鼠足跖肿胀度变化

大鼠足跖肿胀度结果如图4-A所示,给药28 d后,CEL-MS关节腔注射组的大鼠足爪肿胀度显著

低于CEL关节腔注射组和CEL灌胃组( $P<0.05$ ),并且与正常组无显著性差异( $P>0.05$ )。

在关节炎治疗过程中,各组大鼠足爪肿胀度的变化率结果见图4。在治疗最初期的1~9 d(图4-B),CEL-MS关节腔注射组大鼠足爪肿胀消除速度最快,其次为CEL关节腔注射组,而CEL灌胃组大鼠足爪肿胀未出现消除的现象,表明在关节炎治疗的初期,关节内注射CEL-MS能够快速地抑制炎症,而灌胃给予CEL无法有效地抑制炎症的发展。在治疗中期的9~21 d(图4-C)以及后期的21~29 d(图4-D)各治疗组大鼠足爪肿胀度变化率相差不大,并且各治疗组肿胀度变化率的均值都分布在-2~0之间,说明在中后期的治疗过程中各治疗组大鼠的关节肿胀度都呈缓慢降低的趋势。由此可知,关节腔注射CEL-MS在关节炎治疗初期起效迅速,能够有效抑制关节炎的发展。

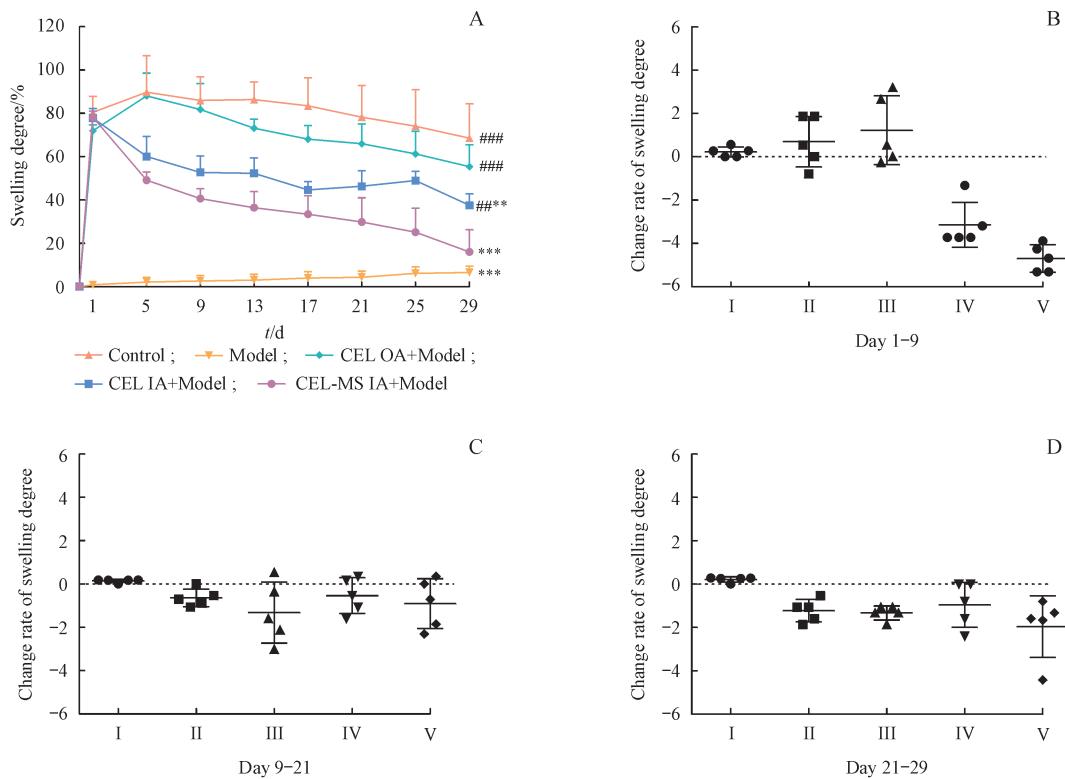


Figure 4 Effects of celecoxib on the paw swelling degree of AA rats ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

A: Paw swelling degree of AA rats treated with celecoxib; B: Change rate of paw swelling degree of AA rats treated with celecoxib for 9 days; C: Change rate of paw swelling degree of AA rats treated with celecoxib for 21 days; D: Change rate of paw swelling degree of AA rats treated with celecoxib for 29 days I: Normal; II: Model; III: CEL OA; IV: CEL IA; V: CEL-MS IA

$^{**}P < 0.01$ ,  $^{***}P < 0.001$  vs model group;  $^{##}P < 0.01$ ,  $^{###}P < 0.001$  vs normal group

### 3.4 大鼠关节炎指数变化

大鼠关节炎指数变化结果如图5所示,在治疗

结束后,CEL-MS关节腔注射组与CEL关节腔注射组、CEL灌胃组和AA模型组相比大鼠关节炎指数

显著下降( $P < 0.01$ ),并与正常组的大鼠关节炎指数无显著性差异,表明 CEL-MS 经关节腔注射给药能够显著抑制关节炎病变。

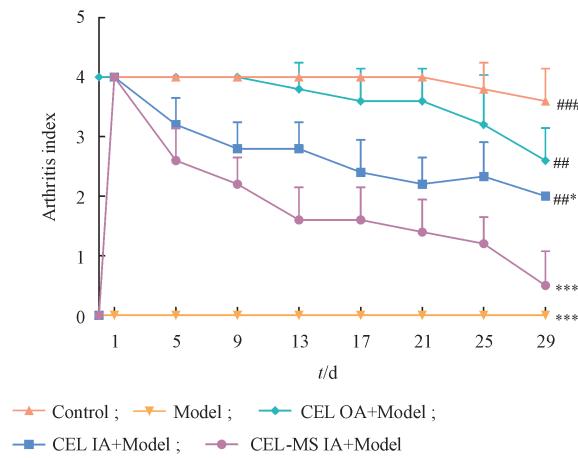


Figure 5 Change curve of arthritis index of AA rats treated with celecoxib ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

\* $P < 0.05$ , \*\*\* $P < 0.001$  vs model group; \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$  vs normal group

### 3.5 大鼠脾指数的考察

大鼠脾指数结果见图 6,AA 模型组大鼠脾指数显著高于正常组( $P < 0.05$ )、CEL 灌胃组、CEL 关节腔注射组和 CEL-MS 关节腔注射组。结果表明,佐剂型关节炎会激活机体免疫系统,导致免疫细胞增殖,使大鼠的脾指数显著升高。各治疗组均可不同程度地降低关节炎大鼠的脾指数,抑制炎

症的发生,其中关节腔注射 CEL-MS 降低大鼠脾指数的效果最好。

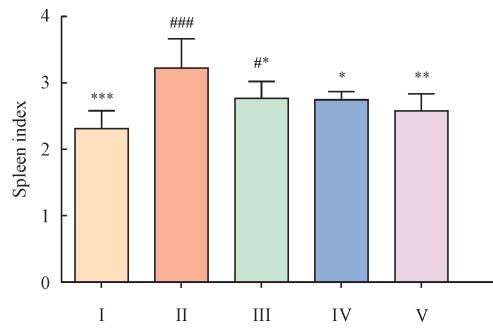


Figure 6 Spleen index of AA rats after 28 days of treatment with celecoxib ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

I: Normal; II: Model; III: CEL OA; IV: CEL IA; V: CEL-MS IA

\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  vs model group; # $P < 0.05$ , ## $P < 0.001$  vs normal group

### 3.6 踝关节滑膜组织病理分析

结果如图 7 所示,正常组大鼠踝关节滑膜组织未见异常,关节滑膜组织薄而完整,无组织水肿及炎性细胞浸润。AA 模型组大鼠关节滑膜组织可见大量淋巴细胞浸润、滑膜细胞增生排列紊乱、组织水肿以及新生毛细血管的生成,出现了明显的炎症。CEL-MS 关节腔注射组大鼠关节滑膜组织只有极少的炎性细胞浸润,和正常组无显著差异。结果表明,关节腔注射 CEL-MS 具抑制关节部位炎性细胞浸润的作用,可使关节炎症基本恢复至正常水平。

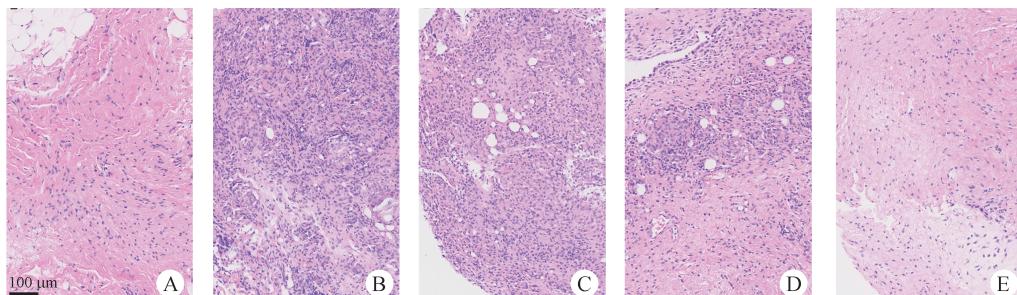


Figure 7 Representative histological analysis of joint synovial tissues in AA rats after 28 days treatment of celecoxib

A: Normal; B: Model; C: CEL OA; D: CEL IA; E: CEL-MS IA

## 4 讨 论

关节内注射药物的主要限制是药物从关节腔渗漏并快速进入全身循环,因此延长药物在关节腔停留时间的策略是将药物封装入具有足够大小的颗粒系统。粒径是药物关节内递送的一个关键因素,粒径越大,注射部位的保留量越大,从而提

高药物疗效<sup>[11]</sup>,但粒径过大对滑膜组织产生刺激性,从而引起滑膜炎症。据文献报道,尺寸小于 250 nm 的颗粒可从关节腔中自由逃逸<sup>[12]</sup>。粒径小于 10  $\mu\text{m}$ (1 ~ 4  $\mu\text{m}$  最佳)的微粒可被滑膜巨噬细胞吞噬,通过巨噬细胞介导的药物控制释放现象,使微粒在滑膜组织持续释药,提高关节腔注射途

径给药的治疗效果,同时不引起中性粒细胞反应<sup>[13-15]</sup>。在本研究中,微球粒径被控制在1~4 μm,以增强药物在关节腔的停留时间,同时,该粒径范围较小,可在关节腔具有良好的生物相容性。

本研究采用弗氏完全佐剂诱导大鼠关节炎模型,评估和比较了关节腔注射CEL-MS和其他治疗对大鼠关节炎模型的抗炎作用。与AA模型组相比,CEL-MS关节腔注射组显著降低了大鼠足爪和踝关节肿胀度及关节炎指数,表明其具有优异的缓解炎症和水肿作用<sup>[16]</sup>;关节腔注射CEL-MS的抗炎作用优于关节腔注射CEL混悬液,这是由于CEL混悬液通过关节腔注射给药后在病灶部位作用时间短,致使其抗炎作用有限<sup>[17]</sup>。此外,灌胃给予CEL混悬液未能有效抑制关节炎症,这主要是因为CEL灌胃给药后大鼠膝关节组织的药物浓度显著低于关节腔注射给药<sup>[18]</sup>。研究还显示,关节腔注射CEL-MS可显著降低造模大鼠的脾指数,抑制关节炎症部位的炎性细胞浸润、滑膜细胞增生、组织水肿和新生毛细血管的生成,从而发挥关节炎治疗作用。综上,关节腔注射CEL-MS可明显改善对类风湿性关节炎的治疗效果。然而,CEL-MS用于关节腔注射的安全性、作用机制以及药代动力学特征有待进一步研究。

## References

- [1] Alaaeldin E, Abou-Taleb HA, Mohamad SA, et al. Topical nano-vesicular spanlastics of celecoxib: enhanced anti-inflammatory effect and down-regulation of TNF- $\alpha$ , NF- $\kappa$ B and COX-2 in complete freund's adjuvant-induced arthritis model in rats [J]. *Int J Nanomed*, 2021, **16**:133-145.
- [2] Wang TY, Zhao P, Zhao QF, et al. The mechanism for increasing the oral bioavailability of poorly water-soluble drugs using uniform mesoporous carbon spheres as a carrier [J]. *Drug Deliv*, 2016, **23**(2):420-428.
- [3] Jeon D, Kim KT, Baek MJ, et al. Preparation and evaluation of celecoxib-loaded proliposomes with high lipid content [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2019, **141**:139-148.
- [4] Dong J, Jiang D, Wang Z, et al. Intra-articular delivery of liposomal celecoxib-hyaluronate combination for the treatment of osteoarthritis in rabbit model [J]. *Int J Pharm*, 2013, **441**(1/2):285-290.
- [5] Nirbhavane P, Sharma G, Singh B, et al. Preclinical explorative assessment of celecoxib-based biocompatible lipidic nanocarriers for the management of CFA-induced rheumatoid arthritis in wistar rats [J]. *AAPS PharmSciTech*, 2018, **19**(7):3187-3198.
- [6] Moghimipour E, Salami A, Monjezi M. Formulation and evaluation of liposomes for transdermal delivery of celecoxib [J]. *Jundishapur J Nat Pharm Prod*, 2015, **10**(1):e17653.
- [7] Kang ML, Im GI. Drug delivery systems for intra-articular treatment of osteoarthritis [J]. *Expert Opin Drug Deliv*, 2014, **11**(2):269-282.
- [8] Su RN, Fan WJ, Zhang ZQ, et al. Preparation and evaluation of azithromycin-loaded microspheres for oral administration [J]. *J China Pharm Univ (中国药科大学学报)*, 2020, **51**(3):299-304.
- [9] Zhao XH, Jiang SR, Dong Q, et al. Anti-rheumatoid arthritis effects of iridoid glucosides from *Lamiosphromis rotata* (Benth.) kudo on adjuvant-induced arthritis in rats by OPG/RANKL/NF- $\kappa$ B signaling pathways [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, **266**:113402.
- [10] El-Shiekh RA, El-Mekkawy S, Mouneir SM, et al. Therapeutic potential of russelioside B as anti-arthritis agent in Freund's adjuvant-induced arthritis in rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, **270**:113779.
- [11] Bonanomi MH, Velvart M, Stimpel M, et al. Studies of pharmacokinetics and therapeutic effects of glucocorticoids entrapped in liposomes after intraarticular application in healthy rabbits and in rabbits with antigen-induced arthritis [J]. *Rheumatol Int*, 1987, **7**(5):203-212.
- [12] Levick JR. A method for estimating macromolecular reflection by human synovium, using measurements of intra-articular half lives [J]. *Ann Rheum Dis*, 1998, **57**(6):339-344.
- [13] Champion JA, Walker A, Mitragotri S. Role of particle size in phagocytosis of polymeric microspheres [J]. *Pharm Res*, 2008, **25**(8):1815-1821.
- [14] Edwards SHR, Cake MA, Spoelstra G, et al. Biodistribution and clearance of intra-articular liposomes in a large animal model using a radiographic marker [J]. *J Liposome Res*, 2007, **17**(3/4):249-261.
- [15] Hirota K, Hasegawa T, Hinata H, et al. Optimum conditions for efficient phagocytosis of rifampicin-loaded PLGA microspheres by alveolar macrophages [J]. *J Control Release*, 2007, **119**(1):69-76.
- [16] Cannavà C, Tommasini S, Stancanelli R, et al. Celecoxib-loaded PLGA/cyclodextrin microspheres: characterization and evaluation of anti-inflammatory activity on human chondrocyte cultures [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2013, **111**:289-296.
- [17] El-Gogary RI, Khattab MA, Abd-Allah H. Intra-articular multi-functional celecoxib loaded hyaluronan nanocapsules for the suppression of inflammation in an osteoarthritic rat model [J]. *Int J Pharm*, 2020, **583**:119378.
- [18] Rabinow B, Werling J, Bendele A, et al. Intra-articular (IA) ropivacaine microparticle suspensions reduce pain, inflammation, cytokine, and substance p levels significantly more than oral or IA celecoxib in a rat model of arthritis [J]. *Inflammation*, 2015, **38**(1):40-60.