星点设计-效应面优化法在国内制剂处方优化中的应用进展

方哲正, 黄味子, 戚建平, 吴 伟, 卢 懿*

(复旦大学药学院, 教育部智能化递药重点实验室, 上海 201203)

摘要: 星点设计 (central composite design, CCD) 是效应面优化法 (response surface methodology, RSM) 中最常用的一种设计方法, 在药剂学领域制剂处方优化方面获得了广泛的使用。值此引入国内20周年之际, 本文回顾了CCD在国内药剂学研究中的应用情况。在简述其基本原理与使用步骤基础上, 总结了使用历程中的常见错误, 并对因素与效应的选择问题进行了讨论, 以促使研究者系统了解CCD, 在研究中进行合理使用。

关键词: 星点设计; 效应面优化法; 药剂学; 不当使用; 原理

中图分类号: R943 **文献标识码**: A **文章编号**: 0513-4870(2021)01-0169-09

Progress on application of central composite design-response surface methodology in optimization of preparations in China

FANG Zhe-zheng, HUANG Wei-zi, QI Jian-ping, WU Wei, LU Yi*

(*Key Laboratory of Smart Drug Delivery of Ministry of Education, School of Pharmacy, Fudan University, Shanghai 201203, China*)

Abstract: Central composite design (CCD) is one of the most commonly used design methods in response surface optimization and has been widely applied in the field of pharmaceutics to optimize preparations. On the 20th anniversary of the introduction of CCD into China, the paper reviews its application in domestic pharmaceutical researches. Based on the brief introduction of basic principle and operation steps of CCD, the mistakes emerging in the application of CCD are summarized, including conceptual confusion with Box-Behnken design and face-centered CCD as well as wrong designs. Besides, the issues concerning the selection of factors and responses are discussed. The article is helpful for researchers to comprehensively understand the CCD and facilitates the rational application of this method.

Key words: central composite design; response surface optimization; pharmaceutics; improper application; principle

药剂学是一门研究药物制剂成形理论、生产处方工艺、质量控制和合理应用的综合性科学。在药剂学研究中, 为了优化处方, 常要考察多个因素对制剂质量的影响, 此时需要合适的优化方法。由于简单易行, 单因素考察是最常用的优化方法, 但却无法考察因素间的相互作用, 效果有限。析因设计只适合于因素水平数较少时的情况, 较多时则所需实验次数太多。正交设计和均匀设计也是较为常用的优化方法, 但精度不够, 模型预测能力不足; 实验结果也只能指出因素的取值方向, 往往取设定水平的极大或极小值, 很难真正达到实验优化的目的[1]。相对而言, 效应面优化法是集数学和统计学方法于一体的实验设计优化法, 所需实验次数较少, 能考察多因素间的相互作用, 也能分析因素与效应间的非线性关系, 是较为理想的优化方法[1]。效应面优化法常用的实验设计方案包括多因素五水平的星点设计 (central composite design, CCD) 和多因素三水平的Box-Behnken设计。CCD设计在医药领域的

收稿日期: 2020-07-23; 修回日期: 2020-08-12.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81973247, 81872815, 81872826, 81573363); 上海市科技发展基金资助项目 (19430741400, 19410761200, 19XD1400300).

*通讯作者 Tel / Fax: 86-21-51980084, E-mail: fd_luyi@fudan.edu.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2020-1244

应用始于1962年, 用于统计测量圆锥节丛孢菌最大生长所需生物素、硫胺素和锌浓度[2], 2000年由吴伟等[1,3]引入国内, 在药剂学处方优化中得到了广泛的应用。在引入国内20周年之际, 本文将回顾CCD在制剂优化中的使用历程, 在简述其基本原理与操作步骤基础上, 重点总结不当、甚至于错误使用CCD的研究实例, 以促使更多研究者了解并合理使用CCD, 发挥其在药剂学研究中的重要作用。

1 CCD在国内药剂学研究中的应用情况

图1为近20年来国内药剂学文献中采用CCD进行处方优化的制剂类型及其比例。由图可见, CCD不仅在缓控释制剂和纳米制剂等新型给药系统中有广泛应用, 其在普通制剂的优化中也较为常见。由于纳米制剂在近10年来研究非常火热, CCD在纳米制剂中的应用占了较大的比例, 约为46%; 其中又以自微乳化给药系统、脂质体与纳米粒的占比较多, 其他纳米制剂主要包括胶束、纳米乳和微球等。在缓控释制剂中的应用以骨架缓释片、胃漂浮缓释制剂和渗透泵片等为主, 脉冲片、包衣缓释片和结肠定位片等则相对较少, 其总和约占缓控释制剂部分的17%左右。普通制剂中以凝胶剂的占比最多, 主要为温敏凝胶; 片剂占比次高, 主要有口崩片和分散片等; 在膜剂、乳剂和溶液剂等中也有一定应用, 其总量约占普通制剂中的13%左右。

2 CCD的原理和步骤

2.1 CCD的原理

CCD是效应面优化法的一种设计方式, 因此遵循效应面优化法的基本原理[1]: 通过实验建立效应值与因素水平间的函数关系 (即效应面), 通过该函数确定获得预期的效应范围时各因素水平的取值范围, 实现实验条件的优化。由于效应面是通过一系列实验的结果拟合的, 合理选择这一系列实验的因素水平组合十分重要, 采用基于线性模型的正交设计或均匀设计难以拟合出理想的效应面, 而星点设计的本质即为一套适用于效应面优化法的因素水平组合方案。

2.2 CCD的步骤

2.2.1 实验方案表与因素水平的确定 星点设计为多因素五水平设计, 水平代码为0、±1和±α, 其中0为中值, α为极值。为方便理解, 因素数k = 2和k = 3时的实验点分布如图2所示。

由图2可以看出, 星点设计是由$F = 2^k$次析因设计 (方框处)、2k次极值点实验 (坐标轴处) 和x次中心点重复实验 (中心点处) 构成的。极值α的取值为$(F)^{1/4}$, 比如, 三因素星点设计, $\alpha = (2^3)^{1/4} = 1.682$, 但$\alpha$也可取值1.732, 此时为等距设计, 是一特例[1]。目前CCD常用的因素数k为2～4, 与之对应的α与x如表1所示。

确定了以水平代码表示的实验方案表后, 还需要将水平代码转换为实际因素水平[1]。首先, 需要根据预实验来确定因素水平的取值范围, 其极大和极小值

Table 1 Common factors number (k) and corresponding extreme value (α), repetitions of central point (x)

k	α	x	Experiment run
2	1.414	5	13
3	1.682 or 1.732	6	20
4	2	7	31

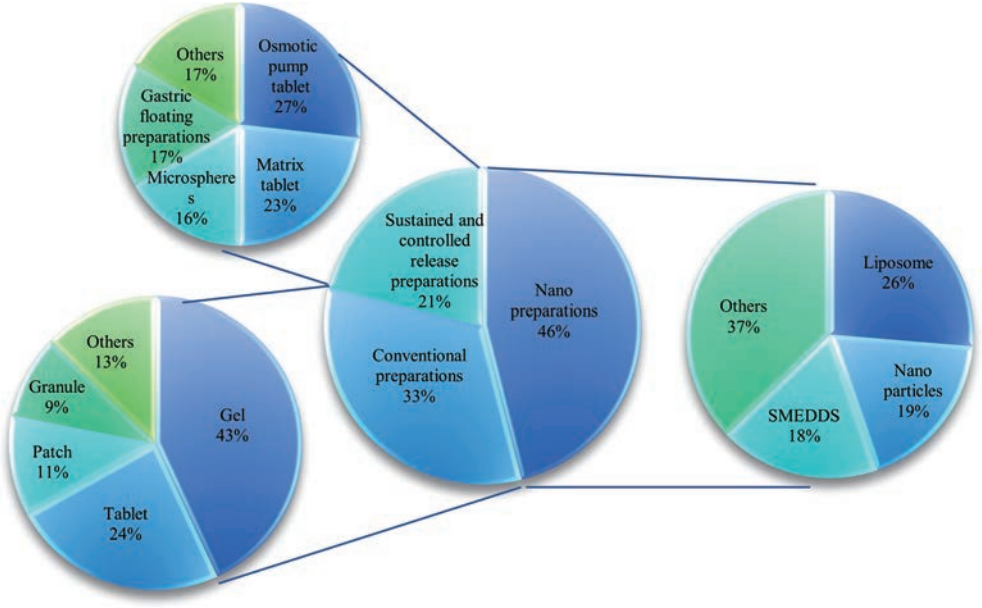

Figure 1 Dosage forms and proportion of domestic literature on pharmaceutics that adopted central composite design in recent 20 years. SMEDDS: Self-microemulsifying drug delivery system

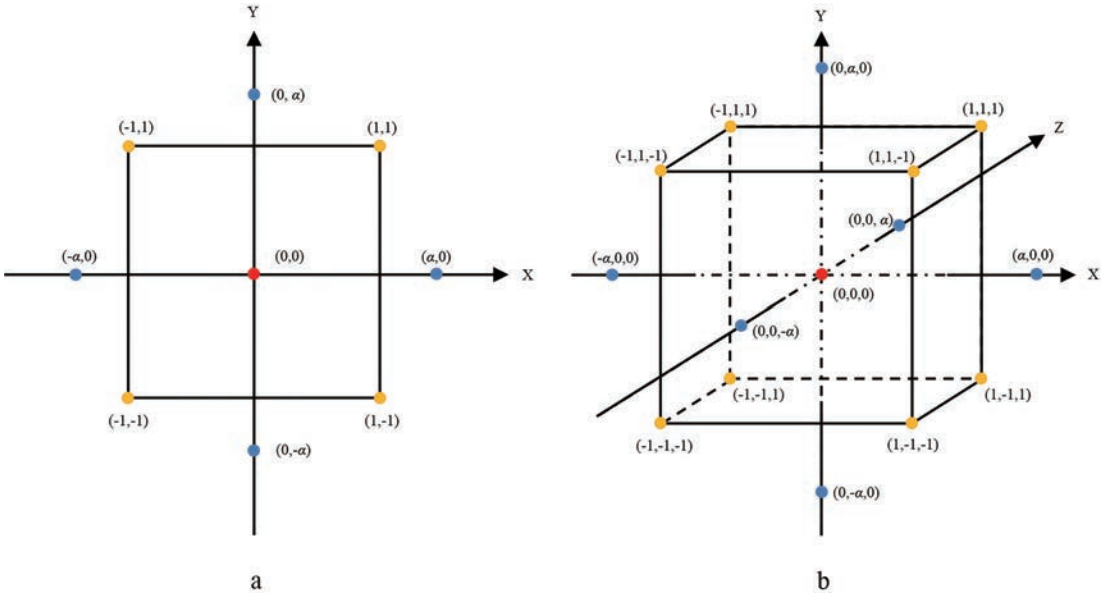

Figure 2 Distribution of experimental points in central composite design with 2 factors (a) and 3 factors (b)

分别对应+α和−α; 接着通过任意两个物理量间的差值与相对应代码间的差值成等比的原则, 确定水平代码±1、0对应的因素水平。

2.2.2 效应面的绘制与数据处理 按拟定的实验方案完成实验后, 通过软件Design-Expert即可建立效应与因素间的函数关系, 并绘制效应面。对于单一效应, 可以直接读取预期效应范围对应的考察因素水平范围(优化区)。对于多个效应, 应取最优区的重叠部分。但当效应数较多时, 对某一效应有利的因素水平组合可能对其他效应不利, 应当合理地兼顾各个效应。此时可采用归一化法, 将各效应值转换为0～1之间的常数, 并计算总评"归一值"[3], 以该值作为单一效应建立与各因素的函数关系, 获得各因素的优化水平范围。

2.2.3 验证建立的效应面 在得到最佳的因素水平组合之后, 还需验证该条件与效应面本身的正确性。按优化后的因素水平组合进行实验, 获取各效应的实测值, 并将其与从效应面获取的预测值进行比较。实测值与预测值之间的偏差 (bias) 代表实测值偏离预测值的程度, 偏差的绝对值越小, 则效应面的预测性能越好, 优化也就越成功。

3 常见问题

虽然CCD已经在药剂学研究中获得了广泛的应用, 但文献调研发现共有约10%的研究在使用CCD时出现问题 (表2), 有可能影响优化的效果。下文将对列出的常见问题进行总结, 并针对它们可能导致的后果提出注意事项。

3.1 概念混淆问题

效应面优化法可以采用不同的实验设计进行优化, 国内采用较多的就是CCD和Box-Behnken设计。然而, 在实际应用中, 有大量研究者混淆了CCD、Box-Behnken设计与效应面优化法的概念, 往往使用的是Box-Behnken设计, 却命名为CCD[4-19]。可能的原因是, 在2007年以前, 星点设计是唯一的效应面优化的设计方法, 容易把两者混为一谈, 甚至于一些研究直接将星点设计等同于效应面优化[20]; 当2007年后Box-Behnken设计作为效应面优化法的另一种设计方法出现时, 尽管已有相关研究区分了CCD与Box-Behnken设计[21], 但仍有研究者因效应面优化法的关系而混淆了两种不同的设计方法, 出现了"使用星点设计−效应面法, 采用Box-Behnken设计进行优化"的表述[11], 或声明使用星点设计−效应面法, 实际的实验方案表还是

Table 2 Common problems appear in the application of central composite design

Type	Problem	Number	Percentage /%
Conceptual confusion	Confused with Box-Behnken design	32	3.2
	Confused with face-centered central composite design	8	0.8
Wrong design	Insufficient repetitions at central point	23	2.3
	Insufficient experiment runs	5	0.5
	Wrong value of α	11	1.1
	Improper transformation of level code	7	0.7
	Others	18	1.8

Box-Behnken 设计[8]。实际上, Box-Behnken 是三水平的实验设计方法, 以三因素 Box-Behnken 设计为例, 其实验点的分布如图 3 所示, 实验点主要分布在立方体各边的中心位置, 与同为三因素的星点设计实验点分布明显不同。然而, 即使命名有误, 只要确实按照 Box-Behnken 设计表开展的实验, 同样能够得到优化的结果。

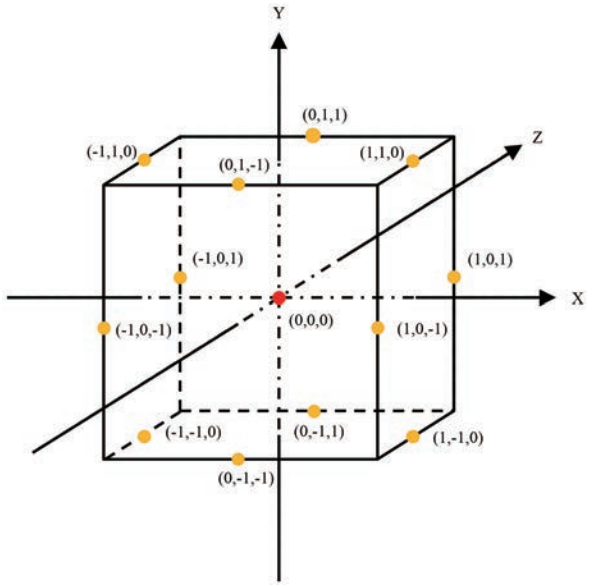

Figure 3 Distribution of experimental points in Box-Behnken design with 3 factors

此外, 也有部分研究者采用了面中心复合设计 (face-centered central composite design, FCCD), 而误认为是 CCD[22-26]。该设计与 CCD 的差异在于将极值 α 设为 1, 其实验点的分布如图 4 所示, 分布于立方体的顶点和各面的中心。因此, 可旋转性差, 拟合精度低, 如非因素水平数受限、因素水平取极值时有的处方参数出现负值等特殊情况, 应尽量避免使用[26]。因素数 $k \geq 3$ 时, 如必须进行三水平设计, 可以选用 Box-Behnken 设计。

3.2 误用不当设计方案的问题

星点设计表的各组成部分都有重要作用, 缺失或误用将导致较为严重的问题。此部分的错误包括: 中心点重复次数不够问题[27-42]、析因设计部分或极值点部分缺失问题[43-47]、极值 α 的取值不当问题[44,47-53]和水平代码转换错误问题[54-57]等。

多次重复的中心点实验的意义在于评估纯误差, 为模型的失拟项检验提供依据。因此, 不同因素的星点设计, 其中心点的重复次数都是通过正交或均一精密的方式确定的。如果只进行 1 次中心点实验, 那么构成效应面的所有实验都未进行重复, 无法评估实验的精确度; 如果中心点重复数过少, 则需要极高的实验精度才能使模型通过失拟项检验, 这是难以实现的。在部分实验研究中, 应用 CCD 时中心点重复实验数不足, 甚至只进行了 1 次中心点实验[27-36], 导致效应面缺少可靠性。

析因设计部分用于考察各因素间的相互作用, 极值点实验用于考察因素与效应间的非线性关系, 都是不可省略的。部分研究中少做了以上两部分的数个实验, 同样降低了效应面的可靠性。

极值 α 的取值由析因设计部分实验次数决定, 并满足前述数学关系时, 模型具有“可旋转性”, 预测性能更好[1]。部分研究中选取的极值 α 与因素数 k 并不匹

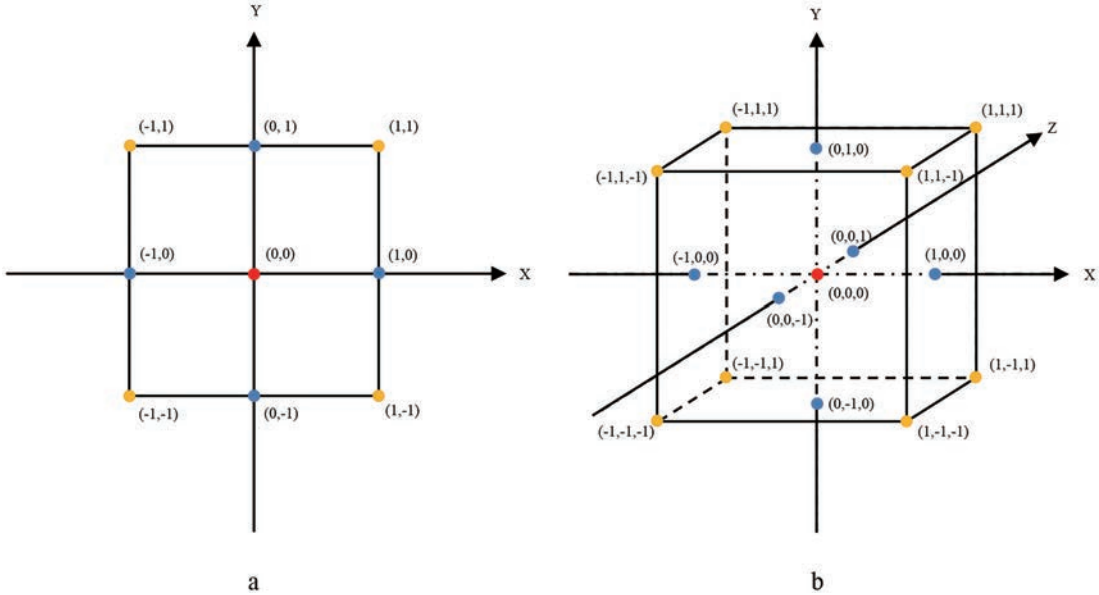

Figure 4 Distribution of experimental points in face-centered central composite design with 2 factors (a) and 3 factors (b)

配, 例如, 因素数 $k = 4$ 时, 极值 α 取 1.732[48], 使得实验点的分布并不符合CCD的设计要求, 优化效果欠佳。

水平代码用于表述因素水平, 应正确转换为实际因素水平。部分实验研究却未能按前述等比例原则将水平代码正确转换为实际因素水平。例如, 某研究[57]的水平代码为1.732、1、0、−1和−1.732, 考察因素的实际物理量水平却是0.25%、0.5%、1%、2%和4%, 不符合星点设计的要求, 最终效应“包封率”的拟合方程 $P > 0.05$, 模型不可信。

此外, 还有看不出实验方案表属于何种设计[45,58,59]和未给出CCD设计表[60-70]等情况。为了保证研究的可重复性, 应提供完整、易读的CCD设计表。否则若出现实验设计有误的情况, 例如只有3个因素水平[62]和总实验数不足[63]等, 甚至无法得知哪里出了问题, 这些研究也无法进行重复。

4 因素与效应的选择问题

4.1 考察因素的选择

在正确使用CCD的前提下, 考察因素的选择和效应指标的设定无疑对于制剂的优劣起到决定性作用。但是, 考察因素并不是越多越好, 实验优化的目的是确定对效应有显著影响因素的水平范围。因此, 应该在单因素考察的基础上, 排除对效应影响不大的考察因素, 留下关键因素。否则, 每增加一个考察因素, 实验数都会相应增加, 拟合函数也会更复杂。比如, 有研究者在优化温敏凝胶时[71], 以胶凝温度为效应, 分别以处方中羟丙甲基纤维素 (hydroxypropyl methylcellulose, HPMC)、泊洛沙姆188和泊洛沙姆407的用量为考察因素。预实验时的单因素考察已经反映出HPMC的用量对胶凝温度的影响不大, 研究者却没有排除, 而最终的效应面也显示HPMC对胶凝温度无明显影响, 无端增加了实验次数。

对于某些取极值的因素 (即水平越大/小越好的因素), 也可以不纳入CCD进行优化, 这一因素的水平可以直接取极值。比如, 若图5为某次星点设计绘制的效应面, A、B为考察因素, OD为越大越好的效应值, 那么A即为应取在极值的考察因素, B即为对效应影响不大的考察因素, 这两个考察因素均应在单因素考察中就发现并排除。如果进行星点设计优化时获得了类似的效应面, 应考虑重新选择考察因素。

除了考察因素本身的选择之外, 其水平的取值也应该在预实验或单因素考察的基础上进一步缩小范围, 以达到优中选优的目的, 若范围过宽, 在与其他因素共同组合成的CCD实验组中, 可能出现效应值异常或制备失败的情况。比如, 有研究者在制备温敏凝胶时, 以各辅料的用量为考察因素, 胶凝温度与泪液稀释

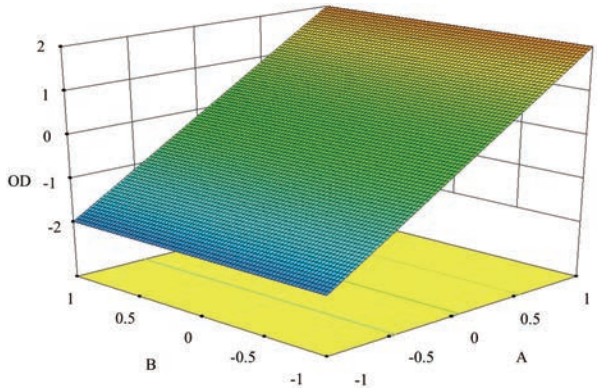

Figure 5 The example of inappropriate investigation factors

后的胶凝温度为效应[72]。而在实验过程中, CCD设计表内的20次实验中有6次出现泪液稀释后不胶凝的情况, 剔除这些数据才能绘制该效应的效应面, 这在一定程度上降低了优化结果的可靠性。

4.2 效应指标的选择

效应指标的选择应该尽可能从不同角度反映制剂的关键质量属性, 或者全面反映制剂设计的意图, 才能通过实验设计得到真正优化的处方和工艺。表3统计了CCD中常用的考察指标, 虽然这些效应能够在一定程度上反映制剂的质量, 但部分研究流于形式, 效应的设置缺乏针对性。比如, 多分散系数、包封率和载药量等效应确实能够反映脂质体的质量, 但是对于粒径的大小, 并不一定是越小越好, 应该根据制剂设计的目的确定合适的粒径范围。对于自微乳化给药系统的处方优化, 常用的流程是, 伪三元相图基本确定各辅料用量范围后, 以粒径、载药量、外观和释放度等为效应进行处方优化, 然而, 自微乳化给药系统促吸收的前提在于其经过体内脂解后能否保持药物的增溶状态, 上述常用的考察指标并不能反映这一关键过程, 由此得到的“优化”处方可能并不能达到预期的作用。

除了效应指标的针对性外, 其能否被准确测定也是十分重要的, 因为过大的测量误差会降低星点设计的优化效果。比如, 在连翘颗粒剂的优化时, 选用了最低抑菌浓度为效应, 其测定通过肉眼观察, 以无细菌生长的药物最低浓度为考察结果[73]。这种测定方式误差较大, 导致20次实验只有3种结果 (3.125、6.25、12.5 $ng \cdot mL^{-1}$), 最终的拟合模型 $P > 0.05$, 模型不可信。同样地, 类似于外观、口感这类受主观因素影响的指标也不太适合选为效应。如果不可避免地需要采用这类指标作为效应, 应做到: 由不进行实验的研究者进行打分, 避免主观偏见; 由多人进行打分并取平均值, 减少评价误差。

当对效应采用归一化处理时, 应合理评估各效应

Table 3 Common responses adopted in the optimization of different dosage forms

Dosage form	Response
Liposome	Encapsulation efficiency, drug loading, particle size, polydispersity index
Nanoparticles	Encapsulation efficiency, drug loading, particle size, polydispersity index
Self-microemulsifying drug delivery system	Self emulsifying time, equilibrium solubility, dissolution, entrapment efficiency, drug loading, particle size, polydispersity index
Gel	Gelation temperature, appearance, viscosity, release rate
Tablets	Disintegration time, hardness, crispness, appearance, taste
Ointment	Appearance, initial adhesion, adhesion, peel strength
Granule	Size, hardness, angle of repose
Sustained or controlled release preparations	Drug release at each time point, stability

变量的重要程度。虽然Hassan归一化法十分常用, 但要注意此法要求各效应是同等重要的。而在实际应用中, 各效应间可能具有主次关系。比如, 以包合率和包合物收得率为效应优化薄荷挥发油包合物时, 包合率是评价包合物优劣的主要标准, 而包合物收得率只在生产中产生一定影响, 处于次要地位[74]。由于包合率和包合物收得率均为0～1之间的值, 可以进行加权求和以获取归一值 (OD): OD = 0.7×包合率 + 0.3×收得率, 最终也获得了较好的优化效果。

5 结论

CCD所需实验数较少, 具有较高的优化效率和准确性, 自2000年引入国内后, 该法在制剂处方优化中得到广泛应用, 对于制剂处方和工艺的发展起到了积极的推进作用。然而, 在CCD的使用历程中, 仍然存在一定的使用误区, 影响了优化的效果, 甚至使优化工作流于形式。只有在充分理解星点设计基本原理及严格遵循其操作过程的基础上, 才能充分发挥CCD的优化效果。随着改良型新药在新药研发中的地位逐步提高, CCD在药剂学处方和工艺优化中的应用将更为广泛, 正确地使用CCD无疑是加快制剂研发进程的重大助力。

作者贡献: 方哲正负责文献检索与论文撰写; 黄味子负责绘制图片; 戚建平和吴伟修改文章语言; 卢懿负责选题、文章框架的设计和论文修改。

利益冲突: 作者声明无利益冲突。

References

[1] Wu W, Cui GH. Central composite design-response surface methodology and its application in pharmaceutics [J]. Foreign Med Sci Sect Pharm (国外医学药学分册), 2000, 27: 292-298.

[2] Grant CL, Coscarelli W, Pramer D. Statistical measurement of biotin, thiamine, and zinc concentrations required for maximal growth of arthrobotrys conoides [J]. Appl Microbiol, 1962, 10: 413-417.

[3] Wu W, Cui GH, Lu B. Optimization of multiple variables: application of central composite design and overall desirability [J]. Chin Pharm J (中国药学杂志), 2000, 35: 26-29.

[4] Lin XY, Li YQ, Zhou J, et al. Preparation of chitosan/berberine hydrochloride sustained-release microspheres [J]. Chin Tradit Pat Med (中成药), 2019, 41: 2560-2566.

[5] Sun DK, Zou CC, Yan HY, et al. Preparation of Gualou-Xiebai intragastric floating pellets and determination of their release *in vitro* [J]. Int J Pharm Res (国际药学研究杂志), 2019, 46: 398-404.

[6] Zhao S, Xiao QM, Zhu QH, et al. Optimization of the preparation of camptothecin loaded MPEG-s-s-C18 nanoparticles by central composite design-response surface method [J]. Chin J Mod Appl Pharm (中国现代应用药学), 2019, 36: 1173-1177.

[7] Jiang A, Li GY, Wang X, et al. Optimization of compounded nanosuspension of paclitaxel and betulinic acid by Box-Behnken design-response surface method [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2019, 50: 852-859.

[8] Xiao Y, Wang X, Fu M, et al. Optimization of wheat germ agglutinin modified vinorelbine cationic liposomes formulation and cytotoxicity test [J]. China Pharm (中国药房), 2018, 29: 611-614.

[9] Wu L, Wu WG, Jiang T, et al. Study on optimization of formulation matrix of processed *Aconitum carmichaelii* hydrogel patch and its *in vitro* drug release [J]. China Pharm (中国药房), 2018, 29: 37-41.

[10] Tang T, Yuan QH, Dong W, et al. Technology research and quality assessment on prescription of imperatorin lipid microspheres by central composite design-response surface method [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2018, 49: 109-114.

[11] Xue J, Gao Y, Wang XL, et al. Preparation of thermo-sensitive *Diammonium glycyrrhizinate* binary liposome gel and the *in vitro* drug-release behaviors [J]. Chin Tradit Pat Med (中成药), 2017, 39: 2284-2288.

[12] Chen B, Gao HJ, Chen CY, et al. Process optimization of albendazole nano-liposomes prepared by high pressure microfl uidization [J]. Chin J Pharm (中国医药工业杂志), 2017, 48: 1156-1163.

[13] Chang J, Qiao MX, Zhao XL, et al. Formulation optimization

and characterization of paditaxe-loaded pH-sensitive liposomes modified with tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate [J]. J Shenyang Pharm Univ (沈阳药科大学学报), 2017, 34: 213-220.

[14] Shi J, Guo JJ, Zhang XL, et al. Optimized the preparation process of Xiongnai thermosensitive gels by Box-Behnken design-response surface connecting with Z-score methodology [J]. J Chin Med Mater (中药材), 2017, 40: 147-151.

[15] Zhou JY, Zhou LH, Zhang XJ, et al. Preparation and physico-chemical properties of pH-sensitive polymeric micelles containing doxorubicin/shizandrin B [J]. J Shenyang Pharm Univ (沈阳药科大学学报), 2016, 33: 686-695.

[16] Zhang J, Luo YX, Liao ZG, et al. Preparation of membrane-modified liposomes loaded with cyanidin-3-glycoside and its primary protective effect on HLECs [J]. Chin J Pharm (中国医药工业杂志), 2015, 46: 1197-1201.

[17] Zhang J, Li X, Liao ZG, et al. Preparation and evaluation of Ershiwuwei Feibing pellets with high drug loading [J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae (中国实验方剂学杂志), 2016, 22: 1-5.

[18] Li SS, Song YL, Wei HH, et al. Preparation of tranexamic acid transfersomes and investigation on their characteristics [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2013, 44: 3141-3146.

[19] Zhao YZ, Lu CT, Mei XG. Optimization of the preparation of sonogenic phospholipids-based microbubbles by using central composite experimental design and response surface methodology [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2008, 43: 862-867.

[20] Wu YJ, Sha XY, Fang XL, et al. Optimization of the intranasal powders of *Panax notoginseng saponins* by the central composite design-response surface methodology [J]. Chin Tradit Pat Med (中成药), 2005, 27: 14-19.

[21] Zhang ZZ, Han CL, Li CW. Application of response surface method in experimental design and optimization [J]. J Henan Ins Edu (Nat Sci Ed) [河南教育学院学报 (自然科学版)], 2011, 20: 34-37.

[22] Zhu LD. Preparation and evaluation of *in situ* gels of fusidic acid nanosuspensions [J]. Northwest Pharm J (西北药学杂志), 2019, 34: 792-797.

[23] Nie XL, Wang Y, Li M, et al. Optimization of cryptotanshinone loaded long-circulation liposomes preparation by central composite design-response surface methodology [J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol (中药新药与临床药理), 2019, 30: 1123-1128.

[24] Shan L, Fan YZ, Wang YL, et al. Optimization and characterization of nimesulide bilayer tablets by response surface methodology [J]. J Chin Pharm Sci, 2014, 23: 89-93.

[25] Yu L, Kuang YM, Yang JR, et al. Preparation of arsenic trioxide nanoparticles the cytotoxicity against four tumor cells [J]. Chin J Mod Appl Pharm (中国现代应用药学), 2013, 30: 701-707.

[26] Liu Q, Jiang LQ, Zheng CL, et al. Optimization of filling particles with three excipients in sustained-release pellets-type tablets by CCD-RSM [J]. Chin J Pharm (中国医药工业杂志), 2013, 44: 1240-1244.

[27] Tian X, Fan YZ, Sun Y, et al. Optimization of artemether self-microemulsifying drug delivery system by central composite design-response surface methodology [J]. Int J Pharm Res (国际药学研究杂志), 2016, 43: 966-970.

[28] Jin GL, Luo P, Du J, et al. Study on formulation optimization of nicorandil sustained-release matrix tablet and drug release *in vitro* [J]. China Pharm (中国药房), 2016, 27: 3564-3566.

[29] Wang YY, Li X, Lai XJ, et al. Development of biphasic drug-loading lipid emulsion of *Salvia miltiorrhiza* and its quality evaluation [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2014, 39: 3748-3752.

[30] Ren YC, Ye L, Luo M, et al. Selection of coating formulation and release mechanism of hydrocortisone colon-targeted tablets [J]. China Pharm (中国药房), 2014, 25: 1193-1196.

[31] He DH, Yuan X, Hong Q, et al. Optimized prescription of hemin dropping pill by the central composite design and response surface method [J]. Chin J Hosp Pharm (中国医院药学杂志), 2013, 33: 1952-1956.

[32] Wu M, Li DY, Xie J, et al. Preparation of bergenin osmotic pump tablets with high drug loading [J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae (中国实验方剂学杂志), 2013, 19: 25-28.

[33] Pang MZ, Liu Q, Dong JN, et al. Preparation and optimization of propranolol hydrochloride matrix sustained-release pellets [J]. J Shenyang Pharm Univ (沈阳药科大学学报), 2011, 28: 93-98.

[34] Wei KD, Xu XM, Fang PF, et al. Preparation technology of nanometer calcium carbonate enteric-coated bioadhesive tablets [J]. Chin J New Drugs (中国新药杂志), 2010, 19: 1275-1280.

[35] Xu BH, Ke X, Ping QN. Optimization of compound hydrochlorothiazide/clonidine hydrochloride sustained-release preparation by central composite design/response surface methodology [J]. J China Pharm Univ (中国药科大学学报), 2008, 39: 505-509.

[36] Meng DM, Xu YH, Ding PT, et al. Optimization of ligustrazine phosphate thermosensitive gel formulation by central composite design-response surface methodology [J]. J Chin Med Mater (中药材), 2008, 31: 286-288.

[37] Tan ZE, Zeng PQ, Tuo HY, et al. Optimization of processing technology for compound metformin hydrochloride by central composite design-response surface methodology [J]. Chin J New Drugs (中国新药杂志), 2019, 28: 1490-1499.

[38] Zhu YW, Jiang SG, Zhou JP. Formulation of thermoreversible microemulsion-based gel containing itraconazole [J]. Chin J New Drugs (中国新药杂志), 2013, 22: 1942-1947.

[39] Wang X, Zhang WG, Li XQ, et al. Preparation and *in vitro* dissolution behaviors of Yiganqing-HPMC K4M/PVP K30 matrix tablet [J]. Chin J Mod Appl Pharm (中国现代应用药学), 2012, 29: 50-55.

[40] Liu XM, Wang ZP, Wei HX. Optimization of Fuyajing effer-

vescent tablet extraction process by central composite design-response surface method [J]. Chin J Exp Tradit Med Form (中国实验方剂学杂志), 2011, 17: 37-40.

[41] Zhang JX, Chen YZ. Optimization of the coating formulation of loxoprofen sodium sustained-release pellets by central composite design-response surface methodology [J]. J China Pharm Univ (中国药科大学学报), 2010, 41: 130-134.

[42] Zhou YF, Wang B. Optimization of ambroxol hydrochloride sustained-release tablets formulation by central composite design-response surface methodology [J]. J China Pharm Univ (中国药科大学学报), 2007, 38: 39-42.

[43] Xu RR, Li Y, Qiu RJ, et al. Preparation and pharmaco dynamic study of aitianyang massage cream [J]. Mod Chin Med (中国现代中药), 2019, 21: 1099-1103.

[44] Jiao Y, Ju HY, Hu KX, et al. Preparation and evaluation of dioscin nanostructured lipid carriers [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2017, 42: 3747-3754.

[45] Li XX, Zhang YH, Liu XS, et al. Preparation of glycyrrhetinic acid niosomes and optimization of its prescription process [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2016, 47: 240-245.

[46] Song YL, Han TF, Li SS, et al. Preparation of nasal ethosome spray of geniposide and its nasal mucosa permeability *in vitro* [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2013, 44: 1105-1110.

[47] Cao S, Zhang CH, Wu XT, et al. Optimized preparation of etofibrate sustained release capsule by central composite design and response surface method [J]. J Jiangsu Univ (Med Ed) [江苏大学学报 (医学版)], 2012, 22: 162-166.

[48] Li XY, Duan YS, Wang KY, et al. Optimization of formulation of buspirone hydrochloride gastric-floating sustained release tablets by central composite design/response surface methodology [J]. Her Med (医药导报), 2018, 37: 986-989.

[49] Xing YY, Ding Z, Zhao YN, et al. Preparation of ibuprofen nanocrystals [J]. Chin J Pharm (中国医药工业杂志), 2018, 49: 338-346.

[50] Liu BL, Shi MX, Zhu ZJ, et al. Optimization of preparation of curcumin-catanionic nanoparticles lipid carriers by central composite design-response surface methodology [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2016, 47: 3401-3406.

[51] Wang ZC, Zhao WM. Optimized preparation of gefitinib chitosan protamine nanoparticles by central composite design-response surface method [J]. Chin J New Drugs (中国新药杂志), 2016, 25: 807-812, 822.

[52] Wu W, Li SZ, Chen LX, et al. Optimized preparation of puerarin PGFE micelle-polymer by a central composite design-response surface method [J]. China J Tradit Chin Med Pharm (中华中医药杂志), 2016, 31: 968-970.

[53] Yuan YX, Guan YB, Zhou N, et al. Optimization of preparation process of compound levofloxacin *in situ* thermo sensitive gel by central composite design-response surface methodology [J]. Her Med (医药导报), 2014, 33: 481-484.

[54] Lv Y, Chen GY, Zhao BQ, et al. Optimization of composition of thermosensitive *in situ* forming eye gel matric containing Muan by central composite design-response surface methodology [J]. Her Med (医药导报), 2018, 37: 1488-1493.

[55] Zeng J, Pu TL, Huang T, et al. Process study of gestodene solid dispersion pellets [J]. Chin J Reprod Con (中华生殖与避孕杂志), 2017, 37: 39-45.

[56] Hao QL, Li X, Zhang CC, et al. Preparation of casticin chitosan microspheres and investigation of its *in vitro* release properties [J]. Chin J Exp Tradit Med Form (中国实验方剂学杂志), 2016, 22: 6-9.

[57] Zhang ZY, Wang P, He WS. Optimization of the prescription of potassium dehydroandrographolide succinate solid lipid microparticle by central composite design-response surface methodology [J]. China Pharm (中国药房), 2014, 25: 1011-1013.

[58] Zhu XL, Wang SS, Li LH, et al. Optimization of preparation technology of near-infrared light response-based doxorubicin hydrochloride nano-liposomes [J]. China Pharm (中国药房), 2019, 30: 1312-1315.

[59] Ye HN, Zhang AL, He Y, et al. Optimization of matrix formulation for fumikang gels by central composite design-response surface methodology [J]. Chin J Exp Tradit Med Form (中国实验方剂学杂志), 2014, 20: 19-22.

[60] Gao MQ, Ren HL, Xie C, et al. Optimized preparation of paclitaxel loaded mPEG-PLA polymer micelles [J]. Chin J Hosp Pharm (中国医院药学杂志), 2017, 37: 1680-1684, 1720.

[61] Song LN, Li HR, Wang HY, et al. Preparation and properties of thermosensitive *in situ* gel for ophthalmic formulation containing pearl hydrolyzate [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2016, 51: 1622-1628.

[62] Liu SY, Bo XH, Dong LJ, et al. Formulation optimization and *in vitro* release of puerarin carboxymethylchitosan microspheres [J]. Chin J Pharm (中国医药工业杂志), 2016, 47: 299-304.

[63] Wang GH, Nie QX, Zang C, et al. Preparation and evaluation of Shedan *in situ* forming gel based on ocular characteristics [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2015, 40: 2982-2987.

[64] Zou Q, Wang B. Preparation of a timed-and controlled-release osmotic pump tablets of isosorbide mononitrate. Ⅰ. Formulation optimization by central composite design-response surface methodology [J]. Chin J Pharm (中国医药工业杂志), 2014, 45: 449-453.

[65] Chen XY, Zhang ZH, Jin X, et al. Optimization of preparation process of floating sustained-release pellets of capsaicin based on nanometer $CaCO_3$ by central composite design-response surface method [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2012, 37: 3400-3405.

[66] Yang GS, Bao FT, Wang WX. Design and *in vitro* evaluation of self-emulsifying drug delivery system for HCPT [J]. J Zhejiang Univ Technol (浙江工业大学学报), 2012, 40: 237-243.

[67] Liu J, Feng LL, Lu WY. Preparation and characterization of

paclitaxel-loaded folate-conjugated polymer micelles as tumor-targeted drug delivery system [J]. Chin J Pharm (中国医药工业杂志), 2010, 41: 830-835.

[68] Hu X, Wu R, Zong L. Preparation and *in vitro* evaluation of diclofenac potassium delayed-sustained release pellets [J]. J China Pharm Univ (中国药科大学学报), 2010, 41: 135-140.

[69] Wang YZ, Fang XL, Li YJ, et al. Preparation, characterization of paclitaxel-loaded Pluronic P105 polymeric micelles and *in vitro* reversal of multidrug resistant tumor [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2008, 43: 640-646.

[70] Zhang JY, Gan Y, Gan L, et al. Optimization and evaluation of a new antischistosomal drug QH917 self-microemulsifying drug delivery system [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2007, 42: 434-439.

[71] Shen T, Chen L, Xie XL, et al. Preparation and evaluation of the formulation of budesonide rectal *in situ* thermogel [J]. J China Pharm Univ (中国药科大学学报), 2018, 49: 689-694.

[72] Huang PQ, Gao LL, Yu YC, et al. Preparation and quality evaluation of levocarnitine thermosensitive *in situ* gel [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2019, 54: 1115-1122.

[73] Liu X, Chen JQ, Li MY, et al. Study on the preparing technology of *Forsythia suspensa* granules by central composite design-response surface methodology [J]. J Northeast Agric Univ (东北农业大学学报), 2012, 43: 130-133.

[74] Tu H, Lu JQ, Jiang HM, et al. Optimization of the inclusion of mint volatile oil by beta cyclodextrin by central composite design response surface methodology [J]. J Chin Med Mater (中药材), 2016, 39: 2579-2581.