

Результаты применения математического планирования экспериментов для подбора и оптимизации условий разработки лекарственных препаратов

Белла Зиннатулина
Иван Лунёв



В работе на стыке наук максимальный эффект достигается при использовании инструментов обеих областей

Опыт математика в фарме

В феврале 2019г. отдел биостатистики был привлечен к разработке препарата, где один из процессов зашел в тупик.

С мёртвой точки разработка сдвинулась, но мы столкнулись с **нежеланием научных сотрудников использовать инструменты математики.**

Почему так происходит?

1 Скептический настрой одной или обеих сторон

2 Негативный предыдущий опыт: работа не была внедрена/понята

3 Неинформированность: не возникает мысли обратиться ко 2й стороне за помощью

Как это изменить?

1 Скептический настрой одной или обеих сторон

2 Негативный предыдущий опыт: работа не была внедрена/понята

3 Неинформированность: не возникает мысли обратиться ко 2й стороне за помощью

Организация межотраслевых конференций, комьюинити для обмена опытом и знаниями

Как это изменить?

1 Скептический настрой одной или обеих сторон

2 Негативный предыдущий опыт: работа не была внедрена/понята

3 Неинформированность: не возникает мысли обратиться ко 2й стороне за помощью

- Закрывать неудовлетворенные потребности
- Начать с простых методов

Организация межотраслевых конференций, комьюинити для обмена опытом и знаниями

Наш опыт

Февраль 2019

Шла разработка препарата. Когда разработка дошла до стадии очистки – очищение белка от примесей, **несколько лет не удавалось подобрать условия очистки для достижения целевого уровня чистоты белка.**

На этом этапе привлекли математиков для использования методов математического моделирования.

Цель – подобрать оптимальные значения параметров эксперимента для получения максимальной чистоты белка.

- Прийти на помощь и удовлетворить потребности, а не продавать «возможности математики»

Design of Experiments

Теория планирования эксперимента формулирует способы оптимальной организации исследовательской работы.

Целевая характеристика/выходные параметры – то, что нам нужно оптимизировать (Y)

Факторы/входные параметры – набор условий эксперимента (X, V, U)

$X = (x_1, x_2, \dots, x_n)$, – n наблюдаемых и управляемых факторов

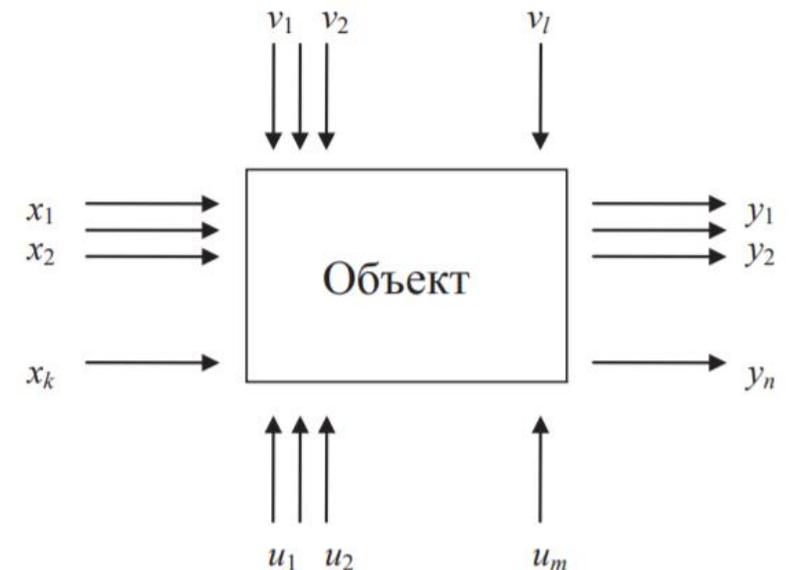
$U = (u_1, u_2, \dots, u_m)$ – m наблюдаемых и неуправляемых факторов

$V = (v_1, v_2, \dots, v_l)$ – l ненаблюдаемых и неуправляемых факторов

$Y = (y_1, y_2, \dots, y_k)$ – k целевых выходных параметров

Каждый фактор имеет область определения

$$x_{iH} \leq x_i \leq x_{iB}, (i = 1, \dots, n)$$



Математическая постановка

Пусть существует n -мерное факторное пространство, в котором определена функция отклика $Y = F(x_1, x_2, \dots, x_n)$.

Предполагается, что данная функция имеет экстремум. **Требуется найти точки экстремума.**

С помощью аппроксимации функции отклика квадратичной функцией оцениваются значения факторов, при которых достигается экстремум.

$$y = b_0 + \sum b_i x_i + \sum b_{ij} x_i x_j + \sum b_{ii} x_i^2, \text{ где}$$

y – выборочное значение функции отклика,

b_0 – свободный член уравнения,

b_i – коэффициент регрессии при линейных эффектах,

b_{ij} – коэф-т регрессии при взаимодействующих эффектах,

b_{ii} – коэф-т регрессии при квадратичных факторах.

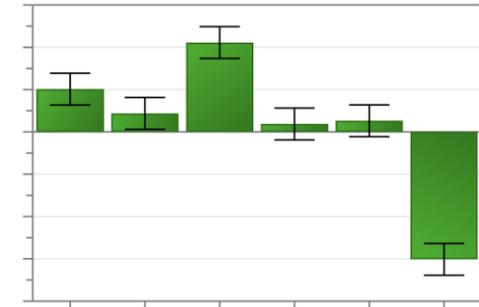
Математическая постановка

1. Скрининг: линейная модель. Поиск значимых факторов

$$y = b_0 + \sum b_i x_i$$

Значимость фактора x_i определяется статистической значимостью коэф-та линейной регрессии b_i .

Качество модели оценивается набором метрик, например $R^2 \geq 0.5$
Только значимые факторы идут на этап оптимизации.

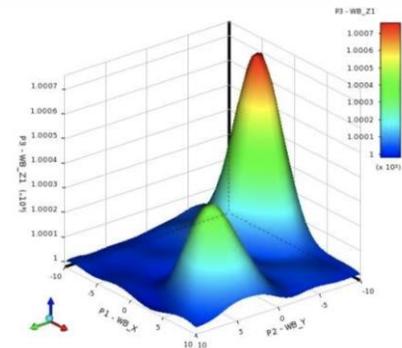


2. Оптимизация: квадратичная модель. Определение значений факторов, дающих экстремум

$$y = b_0 + \sum b_i x_i + \sum b_{ij} x_i x_j + \sum b_{ii} x_i^2$$

Уравнение описывает поверхность параболоида, и, предполагается, что его поверхность близка к области экстремума.

$$R^2 \geq 0.8$$



Планирование эксперимента

Матрица планирования

Составляется для каждого этапа так, чтобы максимизировать полученную в результате экспериментов информацию.

Столбцы – факторы

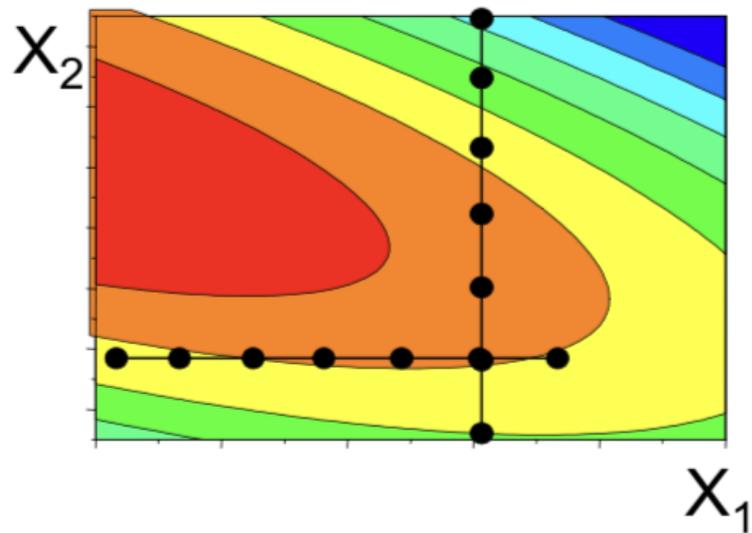
Каждая строка --
отдельный
эксперимент

Номер эксперимента	Концентрация белка, г/л	Концентрация RedOx пары, мМ	Соотношение RedOx пары	pH	Температура	Время, ч	Концентрация Мочевины, М	Концентрация L-Аргинина, М	Хроматографическая чистота, %
1	0.5	5	0.5	8	45	16	2	0.1	4,78
2	0.5	0.5	0.33	8	45	6	2	0.1	15,83
3	5	5	0.33	10	45	6	0.2	0.1	0
4	5	5	0.33	8	4	6	2	0.3	78,44
5	0.5	5	0.5	10	4	6	0.2	0.1	0
6	0.5	5	0.33	8	4	6	0.2	0.1	79,68
7	5	0.5	0.5	10	45	16	0.2	0.1	0

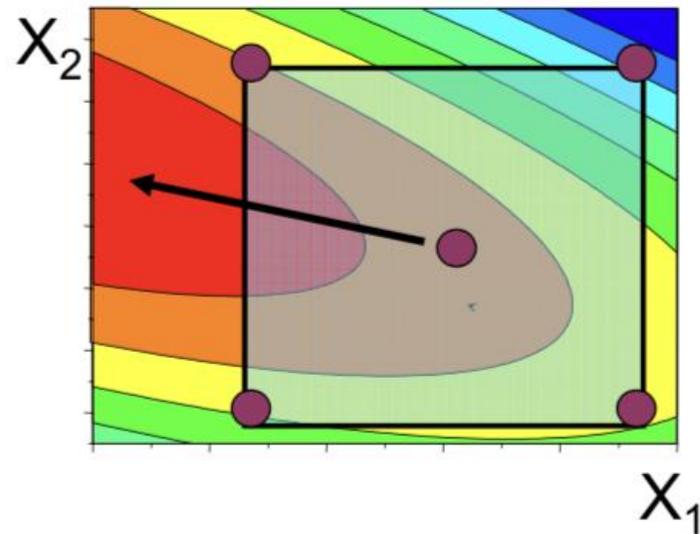
На пересечении значения факторов
(Максимальные и минимальные значения диапазонов, центральные и др.)

Плюсы DoE

За минимальное количество экспериментов достигается максимальная информативность



Классический план эксперимента



DoE

Результаты: первый опыт

За 4 месяца удалось добиться целевой чистоты белка

84 ЭКСПЕРИМЕНТА

x_1 — соотношение телец к буферу
 x_2 — время рефолдинга
 x_3 — pH
 x_4 — объем Redox
 x_5 — redox соотношение
 x_6 — температура
 y — хроматографическая чистота

1

Скрининг 1

32 эксперимента
6 факторов

2

Оптимизация 1

20 экспериментов
3 фактора

3

Скрининг 2

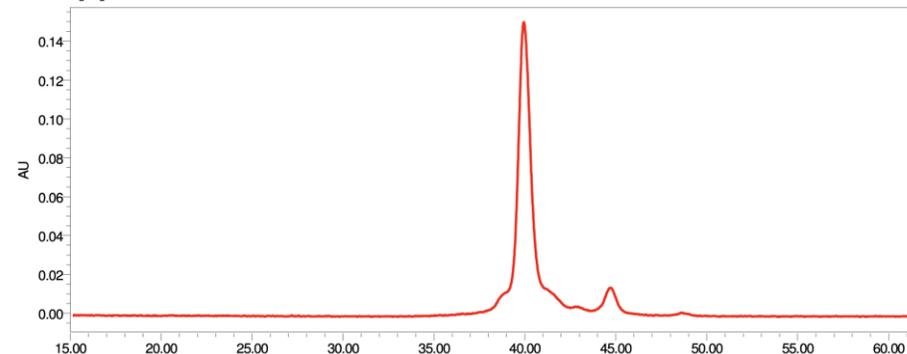
20 экспериментов
5 факторов

4

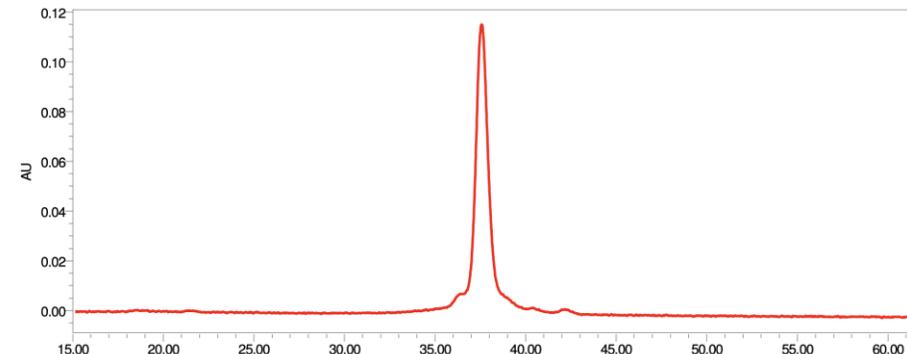
Оптимизация 2

12 экспериментов
2 фактора

До DoE



После DoE



Результаты: после успешного опыта

Применяя DoE с первого этапа подбора условий трансфекции, был достигнут целевой результат в 80%

63 ЭКСПЕРИМЕНТА

x_1 — трансфецирующий агент
(CaCl₂, PEI)
 x_2 — время инкубации ДНК
 x_3 — концентрация плазмиды
 x_4 — концентрация
трансфецирующего агента

1

Оптимизация с агентом CaCl₂

20 экспериментов
3 фактора

2

Оптимизация с агентом PEI

20 экспериментов
3 фактора

3

Доп. Оптимизация с агентом CaCl₂

9 экспериментов
3 фактора

4

Доп. Оптимизация с агентом PEI

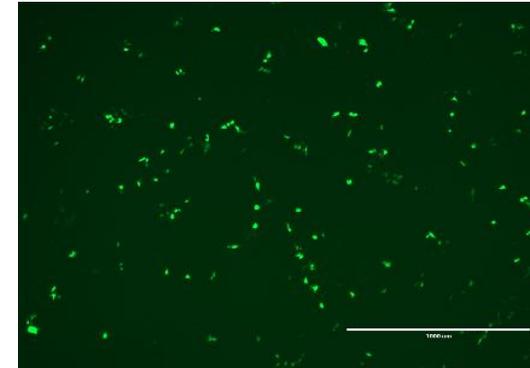
4 эксперимента
3 фактора

5

Доп. Оптимизация+валидация с агентом PEI

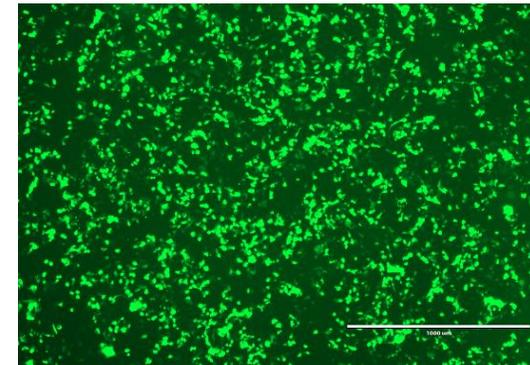
10 эксперимента
3 фактора

До DoE



20.03%

После DoE



90.94%

Что получили

Инструмент DoE был принят лабораториями и внедрен в разработку

Что нам помогло внедрить DoE

- Закрывали неудовлетворенные потребности
- Начать с простых методов

Лаборатория разработки биопроцессов:

- Записались на курсы по DoE
- Изучили софт для самостоятельного использования
- Начали применять этот инструмент в других проектах
- Замотивировали другие лаборатории использовать DoE

«Я даже не думал, что этот фактор хоть как-то влияет на процесс».
Речь шла о ключевом факторе, который выявило моделирование.



 +7(812)703-79-75

+7-965-005-96-55

Белла Зиннатулина

 geropharm.ru

 inform@geropharm.ru
Bella.Zinnatulina@geropharm.com

 [@geropharm_official](https://www.instagram.com/geropharm_official)

 facebook.com/geropharm

191144, Санкт-Петербург, Деловой квартал «Невская Ратуша», Дегтярный пер., 11Б, эт. 10-й

