Statistička analiza stabilnosti

Franić, Mia

Master's thesis / Diplomski rad

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:217:406344

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**



Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb







SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

PRIRODOSLOVNO–MATEMATIČKI FAKULTET

MATEMATIČKI ODSJEK

Mia Franić

STATISTIČKA ANALIZA STABILNOSTI

Diplomski rad

Voditelj rada:
Doc. dr. sc. Vesna Lužar-Stiffler

Zagreb, rujan 2017

Ovaj diplomski rad obranjen je dana _____ pred ispitnim povjerenstvom u sastavu:

1. _____, predsjednik
2. _____, član
3. _____, član

Povjerenstvo je rad ocijenilo ocjenom _____.

Potpisi članova povjerenstva:

1. _____
2. _____
3. _____

Hvala mojoj obitelji i prijateljima na podršci, te mojoj mentorici na uloženom trudu, strpljivosti i svim savjetima.

Sadržaj

Sadržaj **iv**

Uvod **3**

1 Linearna regresija i analiza varijance **4**
1.1 Jednostavna linearna regresija 4
1.2 ANOVA 6
1.3 Motivacija: ANCOVA 7

2 Fixed Effect: određivanje roka trajanja farmaceutskih proizvoda **9**
2.1 Modeli 9
2.2 Test varijabilnosti između serija 11
2.3 Rok trajanja 14
2.4 Primjer 16

3 Random Effect: određivanje roka trajanja farmaceutskih proizvoda **21**

4 Monte-Carlo simulacija **23**
4.1 Rezultati eksperimenta 25
4.2 Zaključak 33
4.3 Dodatak eksperimentu 33

Bibliografija **41**

A SAS kod **44**

Uvod

Tijekom druge polovice 19.stoljeća u SAD-u počela se razvijati farmaceutska industrija. Kako se s vremenom pojavljivala potreba za razvojem novih lijekova, tako se pojavila potreba za kontrolom, a ubrzo je donesen i zakon prema kojemu svi lijekovi moraju imati otisnut rok valjanosti. Početkom sedamdesetih bilo je poznato da neki ljekovi nisu stabilni, poput penicilina, ali nisu postojali propisi kojima bi se regulirala stabilnost. Tek je 1984.godine Američka agencija za hranu i ljekove (FDA) izdala prvi vodič za testiranje stabilnosti, a 1987.godine je izdala i specifikacije o statističkom dizajnu i statističkoj analizi stabilnosti za lijekove namijenjene ljudima (*Guideline for submitting Documentation for the Stability of Human Drugs and Biologics*). Od tada pa sve do danas, konstantno se radi na daljnjem poboljšanju metoda predloženih u vodičima za analizu stabilnosti farmaceutskih proizvoda. Zakoni i specifikacije o stabilnosti u SAD-u razlikuju se od zakona i specifikacija u Europskoj uniji. Razlike se odnose na temperaturu skladištenja lijeka, vremenske periode testiranja, broj serija na kojima se provode testiranja itd. U ovom diplomskom radu naglasak će biti na zakonima SAD-a, ali razlike u zakonima neće imati veliki utjecaj na ovaj rad.

Osnovni farmaceutski pojmovi

Prije opisa statističke analize stabilnosti, dan je kratki pregled farmaceutskih pojmova korištenih u radu. [7]

- *Stabilnost farmaceutskog proizvoda* je sposobnost proizvoda da u vremenu određenom rokom trajanja zadrži sve karakteristike koje je imao u trenutku proizvodnje.
- *Lijek* je svaka tvar ili kombinacija tvari prikazana sa svojstvima liječenja ili sprječavanja bolesti kod ljudi.
- *Aktivna ili djelatna tvar* je tvar ili smjesa tvari namijenjena za proizvodnju lijeka koja postaje djelatni sastojak lijeka s farmakološkim, imunološkim ili metaboličkim djelovanjem u svrhu obnavljanja, ispravljanja ili prilagodbe fizioloških funkcija ili postavljanja medicinske dijagnoze.

- *Serija (eng. batch)* farmaceutskog proizvoda definira se kao određena količina lijeka uniformnog karaktera i kakvoće (unutar određenih granica) proizvedenih u istom proizvodnom hodu unutar istog proizvodnog ciklusa.

- *Shelf-life* je razdoblje tijekom kojega proizvod može biti pohranjen u određenim uvjetima pri čemu se očekuje da zadrži osnovna ljekovita svojstva, odnosno da nije izgubio na kvaliteti. Pojam se razlikuje od roka valjanosti. Rok valjanosti (eng. expiration date) je vrijeme nakon kojeg proizvod više nije siguran za konzumaciju. Kako je na pakiranju farmaceutskih proizvoda obično otisnut *shelf-life* kao rok trajanja, u daljnjem radu rokom trajanja smatrati će *shelf-life*. [4]

Uvod u analizu stabilnosti

Analiza stabilnosti farmaceutskih proizvoda ima veliku ulogu u farmaceutskoj industriji prilikom razvoja i proizvodnje proizvoda. Ona osigurava da proizvod održi kvalitetu i učinkovitost, te da ostane siguran za upotrebu unutar roka valjanosti. Uz to ona nam daje uvid kako aktivna tvar lijeka varira tjekom vremena pod utjecajem različitih faktora, te nam omogućuje određivanje roka valjanosti.

Analiza se obično provodi prilikom razvoja proizvoda u tri koraka. Prvo se skupljaju testni podaci adekvatno pohranjenih uzoraka u nekoliko vremenskih intervala. Zatim se bira prikladan matematički model koji opisuje vezu između testnih podataka i vremena, te se na kraju određuje rok trajanja svih serija. Prilikom provođenja analize, pretpostavlja se da su sve serije farmaceutskog proizvoda proizvedene pod sličnim uvjetima, stoga se prilikom analiziranja podataka razmatraju i moguće varijabilnosti aktivne tvari unutar svake doze, unutar serija te između serija. Radi mogućih varijabilnosti, FDA zahtjeva da se testiranje varijabilnosti između serija provodi sa barem tri serije. Kako bi se krajnji rok trajanja odnosio na sve serije, one moraju biti slučajno odabrane iz cijele popuacije serija. Da bi se ispitala održivost kvalitete i učinkovitosti lijeka, prikupljanje podataka vrši se u određenim vremenskim intervalima te se opisuju pomoću degradacijske krivulje koja može biti linearna, kvadratna ili kubna funkcija, bilo u aritmetičkoj ili logaritamskoj skali. Najjednostavnija je linearna veza i nju ćemo razmatrati u daljnjem istraživanju. Uobičajeno je da se karakteristika lijeka s vremenom smanjuje (iako su ponekad moguća i povećanja).

Postoji nekoliko načina provođenja analize stabilnosti: dugotrajno ispitivanje stabilnosti (eng.long term testing) i ubrzano ispitivanje stabilnosti (eng. accelerated testing).Postoji više razlika između te dvije vrste testiranja [8] , ali iz matematičke perspektive za ovaj rad zanimljiva je samo razlika u vremenu prikupljanja podataka.

Dugotrajno testiranje stabilnosti farmaceutskog proizvoda

Dugotrajno ispitivanje stabilnosti provodi se minimalno dvanaest mjeseci sa barem tri serije. Unutar prve godine, vrši se svaka tri mjeseca, u drugoj godini svakih šest mjeseci, a zatim jednom godišnje. Primjerice, ako je rok trajanja farmaceutskog proizvoda tri godine, onda se analiza stabilnosti provodi u 0,3,6,9,12,18,24 i 36. mjesecu, pri čemu nulti mjesec označava početak ispitivanja. U daljnjem istraživanju naglasak će biti na ovoj metodi. [2]

Ubrzano testiranje stabilnosti farmaceutskog proizvoda

Često se analize stabilnosti provode u kraćem vremenskom periodu nego što je vrijeme trajanja. Takva vrsta testiranja se zove ubrzano testiranje stabilnosti i provodi se minimalno šest mjeseci (0,3,6 mjeseci, pri čemu je nula inicijalno mjerenje), a ukoliko za to vrijeme dođe do značajnih promjena kvalitete farmaceutskog proizvoda, testiranje se nastavlja još šest mjeseci do godine dana. [2]

Cilj ovog diplomskog rada je opisati statističku analizu stabilnosti farmaceutskih proizvoda izvršenu na temelju informacija dobivenig iz svih serija te odrediti rok trajanja, konkretnije *shelf-life*. Kao i svaki drugi statistički test, statistički testovi koji se koriste u analizi stabilnosti imaju neke pretpostavke. Monte-Carlo eksperimentom ispitati će se ponašanje testova s obzirom na odstupanje od pretpostavke o distribuciji pogreške variranjem standardne devijacije, koeficijenata asimetrije i spljoštenosti. Kako se analiza stabilnosti farmaceutskih proizvoda radi na malim uzorcima, ispitati će se i utjecaj veličine uzorka na testove.

Poglavlje 1

Linearna regresija i analiza varijance

U ovom poglavlju su ukratko opisane glavne teorijske ideje i rezultati koji su bitni za daljnje razumijevanje ovog diplomskog rada, počevši od linearne regresije i analize varijance, pa sve do analize kovarijance (ANCOVA) koja je dobra motivacija za daljnje istraživanje.

1.1 Jednostavna linearna regresija

Želimo opisati vezu između nekih slučajnih varijabli. Dobar način za modeliranje takve veze je primjena regresijske analize. Postoji nekoliko vrsta regresijske analize, poput jednostavne i višestruke linearne regresije. Nama je zanimljiva jednostavna linearna regresija. Jednostavna linearna regresija je statistička tehnika koja definira funkcijsku ovisnost između dvije varijable. Funkcijska ovisnost je ovdje pravac i opisuje se jednadžbom

$$Y = aX + b. \tag{1.1}$$

Y se naziva varijablom odziva, a X varijablom poticaja. a i b su regresijski koeficijenti: koeficijent nagiba i koeficijent odreska. Naravno, treba zadovoljiti neke pretpostavke prije primjene bilo kakve regresijske analize, pa tako i jednostavne: varijable poticaja i odziva moraju imati linearni odnos, a pogreške modela trebaju biti nezavisne, homogene i normalno distribuirane s očekivanjem 0. Kakve pogreške? Iako se u modelu 1.1 ne spominju pogreške, prilikom svakog istraživanja i prikupljanja podataka dolazi do pogrešaka, tako da će regresijski model zapravo biti oblika $Y = aX + b + \varepsilon$. Ali primijetimo da je očekivanje pogreške nula, stoga je opravdano zapisivati model jednostavne linearne regresije kao 1.1. Linearna regresija općenito je jako zanimljiva jer daje mogućnost predviđanja vrijednosti varijable odziva. Jednom kada je modelirana veza između varijabli, lako se dobivaju predikcijske vrijednosti, ali prvo treba dobiti odgovarajući model. Prvo se procijene regresijski parametri korištenjem metode najmanjih kvadrata. Ideja metode najmanjih kvadrata je odrediti one parametre za koje rezidualni zbroj kvadrata postiže minimum, drugim riječima

računa se $\min_{a,b} \Sigma(Y - aX - b)^2$. Neka je n broj opservacija, a $\overline{X}$ i $\overline{Y}$ srednje vrijednosti od X i Y. Tada se metodom najmanjih kvadrata jednostavno dobivaju procijenjeni regresijski parametri $\hat{a}$ i $\hat{b}$:

$$\hat{b} = \frac{\Sigma X_i Y_i - n\overline{XY}}{\Sigma X_i^2 - n\overline{X}^2} \qquad \hat{a} = \overline{Y} - \hat{b}\overline{X}^2 \tag{1.2}$$

Dakle, dobiven je model $Y = \hat{a}X + \hat{b}$. Valja napomenuti da dobiveni model ne mora nužno biti dobar. Tu nastupa koeficijent determinacije, ali nećemo ulaziti dalje u detalje jer nije primarno za daljnja razmatranja. Sada možemo predvidjeti vrijednosti varijable odziva. Znamo da je nemoguće izbjeći pogrešku prilikom prikupljanja podataka, a tu je naravno i pogreška nastala zbog procjene parametara, zato prilikom predviđanja treba uzeti u obzir i pogreške. Radi toga računaju se i pouzdani intervali. Posebno su zanimljivi pouzdani intervali za varijablu odziva Y jer ipak želimo predvidjeti njezine vrijednosti. Pouzdani intervali za očekivanu vrijednost Y uz dani X^* (tj. za $\mathbb{E}(Y|X^*)$) dani su sa

$$\hat{Y} \pm t_{\alpha/2}(N-2)\hat{\sigma}\sqrt{\frac{1}{n} + \frac{(X^* - \overline{X})^2}{S_{XX}}} \tag{1.3}$$

gdje su

$$\hat{\sigma} = \sqrt{\frac{\Sigma(Y_i - \hat{Y}_i)^2}{n-2}} \qquad S_{XX} = \Sigma(X_i - \overline{X})^2. \tag{1.4}$$

[1]

Napomena 1.1.1. *Pretpostavimo da zelimo provesti k jednostavnih linearnih regresija. Tada možemo posegnuti za matričnim zapisom:*

$$\begin{bmatrix} Y_1 \\ Y_2 \\ \vdots \\ Y_k \end{bmatrix} = a \begin{bmatrix} 1 \\ 1 \\ \vdots \\ 1 \end{bmatrix} + b \begin{bmatrix} X_1 \\ X_2 \\ \vdots \\ X_k \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} \varepsilon_1 \\ \varepsilon_2 \\ \vdots \\ \varepsilon_k \end{bmatrix}$$

Radi lakšeg zapisa formula i rezutlata u ostatku diplomkog rada uvesti ćemo neke oznake. Opažane vrijednosti varijabli Y_i u točkama $X_i = (x_{i1}, ..., x_{ip})$ označimo sa $(y_{i1}, ..., y_{ip})$. Primijetimo da su sada $[Y_1, Y_2, ..., Y_k]^\top$ i $[X_1, X_2, ..., X_k]^\top$ matrice.

$$\begin{bmatrix} y_{11} & y_{12} & \dots & y_{1p} \\ y_{21} & y_{22} & \dots & y_{2p} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ y_{k1} & y_{k2} & \dots & y_{kp} \end{bmatrix} = a \begin{bmatrix} 1 \\ 1 \\ \vdots \\ 1 \end{bmatrix} + b \begin{bmatrix} x_{11} & x_{12} & \dots & x_{1p} \\ x_{21} & x_{22} & \dots & x_{2p} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ x_{k1} & x_{k2} & \dots & x_{kp} \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} \varepsilon_{11} & \varepsilon_{12} & \dots & \varepsilon_{1p} \\ \varepsilon_{21} & \varepsilon_{22} & \dots & \varepsilon_{2p} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \varepsilon_{k1} & \varepsilon_{k2} & \dots & \varepsilon_{kp} \end{bmatrix}$$

Sada retke matrice $Y = [Y_1, Y_2, ..., Y_k]^\top$ možemo označavati kao $Y_{\cdot j}$, a stupce $Y_{i\cdot}$. Isto vrijedi za matricu $X = [X_1, X_2, ..., X_k]^\top$.

1.2 ANOVA

ANOVA ili analiza varijance je statistički test koji testira jednakost odnosno razlike očekivanja između grupa. Primjerice, imamo 15 tableta podijeljenih slučajnim odabirom u tri količinski jednake grupe i želimo testirati da li je očekivana količina promatrane supstance lijeka jednaka u svim grupama. Postoje jednofaktorska i višefaktorska ANOVA, ali razmatrat ćemo samo jednofaktorsku ANOVA-u. Dakle, želimo usporediti djelovanje k tretmana na razdiobu varijable Y. Neka je Y_{ij} $(i = 1, ..., k,\ j = 1, .., n_i)$ slučajan uzorak veličine $n = n_1 + ... + n_k$. Dakle, on se sastoji od k nezavisnih poduzoraka duljina. Model je dan sa:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij} \tag{1.5}$$

gdje je μ sveukupna populacijska sredina, τ_i odstupanje i-tog tretmana od μ i $\varepsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$ slučajna pogreška. Prije provođenja analize varijance, potrebno je provjeriti jesu li zadovoljene pretpostavke modela: uzorci moraju biti nezavisni, a pogreške nezavisne, normalno distribuirane s homogenim varijancama. Testiramo hipotezu

$$H_0 : \text{populacijska očekivanja tretmana (grupa) su jednaka}$$

odnosno

$$\begin{aligned} H_0 &: \tau_i = 0 \qquad \forall i = 1, ..., k \\ H_a &: \tau_i = 0 \qquad \text{za barem jedan} i = 1, ..., k \end{aligned} \tag{1.6}$$

Rezultati i testna statistika u analizi kovarijance se uobičajeno prikazuju u ANOVA tablici (tablica 1.1). [5]

Tablica 1.1: ANOVA tablica

Izvor varijabilnosti (SS)	Stupnjevi slobode (DF)	Sume kvadrata (SS)	Sredina kvadrata varijanci (MS)	Testna statstika
Zbog tretmana	$k-1$	SST	MST	F
Slučajna pogreška	$n-k$	SSE	MSE	
Ukupno	$n-1$	SS_{TOT}		

Ukratko o sadržaju tablice:

- SST je suma kvadrata nastala zbog razlike među tretmanima, a računa se kao $SST = \sum_{i=1}^{k}(\overline{Y}_{i\cdot} - \overline{Y}_{\cdot\cdot})^2$
- SSE je suma kvadrata reziduala, te vrijedi $SSE = \sum_{i=1}^{k}\sum_{j=1}^{n_i}(Y_{ij} - \overline{Y}_{i\cdot})^2$
- SS_{TOT} je ukupna suma kvadrata i ona je jednaka $SS_{TOT} = SSE + SST$

- MSE je srednjekvadratna greška, i vrijedi $MSE\frac{SSE}{n-k}$
- MST je srednjekvadratno odstupanje zbog tretmana, te je $MST = \frac{SST}{k-1}$
- F je testna statistika, te pod pretpostavkom nulte hipoteze vrijedi

$$F = \frac{MST}{MSE} \sim F(k-1, n-k)$$

1.3 Motivacija: ANCOVA

Analiza kovarijance (ANCOVA) je dobra "matematička motivacija" za teoriju statističke analize stabilnosti. Ona kombinira analizu varijance i linearnu regresiju. Glavna ideja ANCOVA-e je slična kao i kod analize varijance: testirati jesu li očekivane vrijednosti zavisne varijable jednake unutar različitih grupa dok statistički kontroliramo utjecaj nekih drugih kontinuiranih varijabli koje nam same po sebi nisu bitne za istraživanje. Te "nebitne" kontinuirane varijable zovemo *kovarijable*. Kovarijable možeo shvatiti kao dopunske informacije koje nam pomažu da dođemo do preciznijih spoznaja o glavnome obilježju. Primjerice, ispitujemo učinkovitost nekog lijeka. Istraživanje provodimo sa tri grupe ljudi i testiramo da li je očekivana dob doživljenja jednaka u sve tri grupe. Primijetimo da na to pitanje može odgovoriti i analiza varijance. Ali ako pridodamo razmatranju još i dob ispitanika ili zdravstveno stanje, to sve može utjecati na dob koju će pojedinac doživjeti ali nije vazano za samu učinkovitost lijeka.

Ukupna varijabilnost zavisne varijable u ANOVA modelu (SS_{TOT}) dolazi od varijabilnosti između uzoraka (SST) i varijabilnosti unutar uzoraka (SSE). ANCOVA pokušava objasniti što je više moguće neobjašnjenu varijancu pomoću kovarijabli. Nulta hipoteza je jednaka kao i kod ANOVA modela:

$$H_0 : \text{populacijska očekivanja tretmana (grupa) su jednaka}$$

a rezultati i testna statistika su sumirani u tablici 1.2 gdje je pod pretpostavkom nulte hipoteze

$$F = \frac{MST}{MSE} \sim F(k-1, n-k-1).$$

Analiza kovarijance zahtjeva da veza između zavisne varijable i kovarijable bude linearna, homogenost koeficijenata nagiba (regresijski pravci po grupama moraju biti paralelni), homogenost varijanci i normalnu ditribuiranost zavisne varijable za svaku kombinaciju kovarijable i grupe (tretmana).

Stavimo sada analizu kovarijance u kontekst našeg problema. Želimo ispitati varijabilnost aktivne tvari lijeka između serija i proučiti njezinu promjenu. Da li je očekivana količina

Tablica 1.2: ANCOVA tablica

Izvor varijabilnosti (SS)	Stupnjevi slobode (DF)	Sume kvadrata (SS)	Sredina kvadrata varijanci (MS)	Testna statistika
Kovarijabla	1	SS_{Cov}	MS_{Cov}	$\frac{MS_{Cov}}{MSE}$
Unutar (zbog tretmana)	$k-1$	SST	MST	F
Između (sl. pogreška)	$n-k-1$	SSE	MSE	
Ukupno	$n-1$	SS_{TOT}		

aktivne tvari jednaka u svim serijama? Za očekivati je da na količinu aktivne tvari neće utjecati samo serija u kojoj je lijek proizveden, nego i vrijeme. Kako vrijeme prolazi mogli bi očekivati njezino smanjenje ili čak povećanje. Dakle u terminima analize kovarijance, vrijeme ima ulogu kovarijable, dok zavisna varijabla mjeri količinu aktivne tvari, a u ulozi grupe (tretmana) je serija. Ali proučavanje varijabilnosti između serija nije "čista" statistička analiza stabilnosti, nego kao što je već rečeno, samo dobra motivacija. Statistička analiza stabilnosti je opisana u sljedećem poglavlju. [1]

Poglavlje 2

Fixed Effect: određivanje roka trajanja farmaceutskih proizvoda

Uobičajeno je da se rok trajanja farmaceutskog proizvoda dobiva provođenjem dugotrajnog ispitivanja stabilnosti. U svrhu dobivanja jedinstvenog roka trajanja, koji bi bio prikladan svim proizvedenim serijama, FDA zahtjeva da se testiranje varijabilnosti između serija provodi sa barem tri serije. Dakle, prije udruživanja dobivenih rezultata o stabilnosti, provodi se test sličnosti serija opisan u podpoglavlju 1.2. Ali prije toga treba proučiti moguće modele pomoću kojih se mogu opisati varijabilnosti između serija.

2.1 Modeli

Pretpostavka je da se svojstvo i učinkovitost lijeka smanjuju kako vrijeme prolazi, što u terminima jednostavnog linearnoregresijskog modela znači da je degradacijska krivulja negativna. Neka je I broj serija i J_i vremenske točke u kojima se vrši ispitivanje. Model jednostavne linearne regresije dan je sa

$$Y_{ij} = \alpha_i + \beta_i X_{ij} + \varepsilon_{ij} \tag{2.1}$$

gdje su $i = 1, 2..., I$, $j = 1, 2, ...n_i$,
Y_{ij} - svojstvo proizvoda i-te serije u j-toj vremenskoj točki (izraženo u postocima),
X_{ij} - vrijeme j-tog mjerenja i-te serije (u mjesecima ili tjednima
ε_{ij} - pogreška u j-tom mjerenju i-te uz pretpostavku da je $\varepsilon_{ij} \sim N(0, \sigma_i^2)$
α_i, β_i - regresijski parametri modela (odrezak i nagib).

Radi mogućih varijabilnosti između serija, moguće su razlike između regresijskih pravaca. Četiri su mogućnosti:

Model 1. Sve degradacijske krivulje imaju iste regresijske parametre (koeficijente odrezaka i nagiba) (slika 4.1a)

$$Y_{ij} = \alpha + \beta X_{ij} + \varepsilon_{ij}$$

Model 2. Degradacijskie krivulje imaju isti koeficijent nagiba, ali različite koeficijente odrezaka (slika 4.1b)

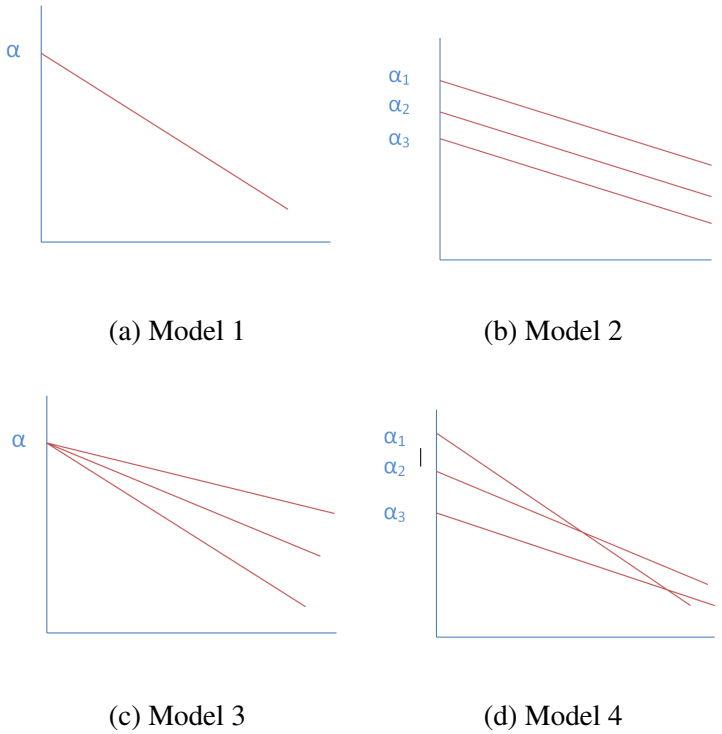
$$Y_{ij} = \alpha_i + \beta X_{ij} + \varepsilon_{ij}$$

Model 3. Degradacijske krivulje imaju različite koeficijente nagiba, ali iste koeficijente odrezaka (slika 2.1c)

$$Y_{ij} = \alpha + \beta_i X_{ij} + \varepsilon_{ij}$$

Model 4. Degradacijske krivulje imaju različite koeficijente odrezaka i nagiba (slika 2.1d)

$$Y_{ij} = \alpha_i + \beta_i X_{ij} + \varepsilon_{ij}$$



(a) Model 1 (b) Model 2

(c) Model 3 (d) Model 4

Slika 2.1: Modeli

2.2 Test varijabilnosti između serija

Test sličnosti serija je ispitivanje homogenosti degradacijskih krivulja između serija. Sastoji se od ispitivanja dviju hipoteza:

$$H_{0\alpha} : \alpha_i = \alpha_k \quad \forall i \neq k \tag{2.2}$$

$$H_{0\beta} : \beta_i = \beta_k \quad \forall i \neq k \tag{2.3}$$

Drugim riječima, provodi se test jednakosti koeficijenata odrezka paralelnih pravaca i test jednakosti koeficijenata nagiba. Testne statistike mogu se jednostavno izvesti u sedam koraka. [6]

1. Prilagodba modela jednostavne linearne regresije za svaku seriju posebno

   $$Y_{ij} = a_i + b_i X_{ij} \qquad \forall i, \quad j = 1, 2..., n_i$$

   gdje su regresijski koefiijenti dani sa

   $$b_i = \frac{\sum_{i=1}^{I}(X_{ij} - \overline{X_{i\cdot}})(Y_{ij} - \overline{Y_{i\cdot}})}{\sum_{i=1}^{I}(X_{ii} - \overline{X_i})^2}$$
   $$a_i = \overline{Y}_{\cdot} - b_i \overline{X}_{i\cdot}$$

   a $\overline{X}_{i\cdot}$ i $\overline{Y}_{i\cdot}$ srednje vrijednosti

   $$\overline{X}_{i\cdot} = \frac{1}{n_i}\sum_{j=1}^{n_i} X_{ij} \qquad \overline{Y}_{i\cdot} = \frac{1}{n_i}\sum_{j=1}^{n_i} Y_{ij}$$

   Zatim se izračunaju sume kvadrata varijanci za svaki dobiveni model

   $$SS_{i1} = \frac{1}{n_i - 1}\sum_{j=1}^{n_i}(Y_{ij} - \overline{Y})^2$$

   odakle združivanjem sumi kvadrata varijanci SS_{i1} slijedi

   $$SS_1 = \frac{\sum_{i=1}^{I}(n_i - 2)SS_{i1}}{\sum_{i=1}^{I}(n_i - 2)}$$

2. Prilagodba modela jednostavne linearne regresije sa zajedničkim nagibima i različitim koeficijentima odrezaka

   $$Y_{ij} = \overline{a}_i + \overline{b}_i X_{ij} \qquad \forall i, \quad j = 1, 2..., n_i$$

pri čemu su regresijski koeficijenti dani sa

$$\overline{b}_i = \frac{\sum_{i=1}^{I}(X_{ij} - \overline{X_{i\cdot}})(Y_{ij} - \overline{Y_{i\cdot}})}{\sum_{i=1}^{I}(X_{ij} - \overline{X_{i\cdot}})^2}$$
$$a_i = \overline{Y}_{i\cdot} - b_i\overline{X}_{i\cdot}$$

3. Prilagodba modela jednostavne linearne regresije za srednje vrijenodsti serija $(\overline{X}_{i\cdot}, \overline{Y}_{i\cdot})$

$$Y_{i\cdot} = \hat{a} + \hat{b}X_{i\cdot} \qquad i = 1, 2, ..., I$$

a regresijski koeficijenti su dani sa

$$\hat{b} = \frac{\sum_{i=1}^{I}(\overline{X}_{i\cdot} - \overline{X_{\cdot\cdot}})(\overline{Y}_{i\cdot} - \overline{Y_{\cdot\cdot}})}{\sum_{i=1}^{I}(\overline{X}_{i\cdot} - \overline{X_{\cdot\cdot}})^2}$$
$$\hat{a} = \overline{Y}_{\cdot\cdot} - \hat{b}\overline{X}_{\cdot\cdot}$$

4. Prilagodba modela jednostavne linearne regresije sa pretpostavkom da sve serije imaju jednake regresijske koeficijente

$$\hat{Y}_{ij} = a + bX_{ij} \qquad i = 1, 2, ..., I \quad j = 1, 2, ..., n_i$$

gdje su

$$b = \frac{\sum_{i=1}^{I}\sum_{j=1}^{n_i}(X_{ij} - \overline{X_{\cdot\cdot}})(Y_{ij} - \overline{Y_{\cdot\cdot}})}{\sum_{i=1}^{I}\sum_{j=1}^{n_i}(X_{ij} - \overline{X_{\cdot\cdot}})^2}$$
$$a = \overline{Y}_{\cdot\cdot} - b\overline{X}_{\cdot\cdot}$$

5. Ukupna suma kvadrata SS_{tot} se rastavi na sumu kvadrata zbog regresije SS_{reg} i sumu kvadrata rezduala SS_{res}

$$SS_{tot} = \sum_{i=1}^{I}\sum_{j=1}^{n_i}(Y_{ij} - \overline{Y}_{\cdot\cdot})^2 = \sum_{i=1}^{I}\sum_{j=1}^{n_i}(\hat{Y}_{ij} - \overline{Y}_{\cdot\cdot})^2 + \sum_{i=1}^{I}\sum_{j=1}^{n_i}(Y_{ij} - \hat{Y}_{ij})^2 = SS_{reg} + SS_{res}$$

6. Zatim se suma kvadrata reziduala SS_{res} rastavi na sljedeći način

$$\begin{aligned} SS_{res} &= \sum_{i=1}^{I}\sum_{j=1}^{n_i}(Y_{ij} - a - bX_{ij})^2 = \\ &= \sum_{i=1}^{I}\sum_{j=1}^{n_i}[Y_{ij} - (a_i + b_iX_{ij})]^2 + \sum_{i=1}^{I}(b_i - \overline{b})^2\sum_{j=1}^{n_i}(X_{ij} - \overline{X_{i\cdot}})^2 + \\ &+ \sum_{i=1}^{I} n_I[\overline{Y}_{i\cdot} - (\hat{a} + \hat{b}\overline{X}_{ij})]^2 + \frac{(\overline{b} - b)^2}{[\sum_{i=1}^{I} n_i(\overline{X}_{i\cdot} - \overline{X_{\cdot\cdot}})^2]^{-1}[\sum_{i=1}^{I}\sum_{j=1}^{n_i}(X_{ij} - \overline{X}_{i\cdot})^2]^{-1}} = \\ &= SS_{resin} + SS_{slopein} + SS_{regmn} + SS_{slopemn} \end{aligned}$$

Drugim riječima, SS_{resin} predstavlja sumu kvadrata varijanci nastalih prilagodbom regresijskim krivuljama svake serije, $SS_{slopein}$ sumu kvadrata varijanci nastalih između koeficijenata nagiba, SS_{regmn} je suma kvadrata varijanci nastalih zbog regresije srednjih vrijednosti serija, dok $SS_{slopemn}$ predstavlja sumu kvadrata varijanci između koeficijenta nagiba dobivenih regresijom sa srednjim vrijednostima, te regresijom sa zajedničkim koeficijentom nagiba.

7. Računajući sredine kvadrata varijanci (eng. mean square) dobiva se ANOVA tablica sa svim informacijama potrebnim za testiranje hipoteza 2.2 i 2.3.

Tablica 2.1: ANOVA

Suma kvadrata (SS)	Stupnjevi slobode (DF)	Sredina kvadrata varijanci (MS)
$SS_{slopemn}$	1	$MS_{slopemn} = SS_{slopemn}$
SS_{regmn}	$I-2$	$MS_{regmn} = SS_{regmn}/(I-2)$
$SS_{slopein}$	$I-1$	$MS_{slopein} = SS_{slopein}/(I-1)$
SS_{resin}	$\Sigma n_i - 2I$	$MS_{resin} = SS_{resin}/(\Sigma n_i - 2I)$
SS_{res}	$\Sigma n_i - 2$	$MS_{res} = SS_{res}/(\Sigma n_i - 2)$

te se na kraju računaju testne statistike za provedbu testa jednakosti koeficijanata nagiba i testa jednakosti koeficijenata odrezaka paralelnih regresijskih pravaca. Testna statisitika za testiranje hipoteze o jednakosti nagiba $H_{0\beta}$(2.3) je dana sa

$$F_\beta = \frac{MS_{slopein}}{MS_{resin}} \tag{2.4}$$

te pod pretpostavkom nulte hipoteze F_β ima Fisherovu distribuciju, preciznije

$$F_\beta \sim F(I-1, \Sigma n_i - 2I) \tag{2.5}$$

dok je testna statistika za testiranje hipoteze o jednakosti koeficijenata odrezaka paralelnih pravaca dana sa

$$F_\alpha = \frac{MS_{slopein} + MS_{regmn}}{MS_{resin}} \tag{2.6}$$

a pod pretpostvkom nulte hipoteze $H_{0\alpha}$ (2.2) vrijedi

$$F_\alpha \sim F(I-1, \Sigma n_i - 2I). \tag{2.7}$$

Sada, kada su izvedene testne statistike, treba odrediti razinu značajnosti na kojoj će se provoditi opisani testovi hipoteza. FDA predlaže, da se obje hipoteze testiraju na razini značajnosti od 25%. To znači da za prihvaćanje nulte hipoteze, bilo $H_{0\alpha}$ ili $H_{0\beta}$, dobivena p-vrijednost mora biti veća ili jednaka 0.25. Na samom kraju, nakon što su provedeni opisani testovi hipoteza, lako možemo odabrati odgovarajući model koji opisuje varijabilnosti između serija. Ako je je odbačena hipoteza o jednakosti nagiba $H_{0\beta}$, tada se varijabilnosti između serija opisuje Modelom 3 ili Modelom 4. Ako hipoteza o jednakosti nagiba nije odbačena, ali hipoteza o jednakosti koeficijenata odrezaka paralelnih pravaca je, tada se radi o Modelu 2. Na kraju, ako su odbačene obje hipoteze, tada je odnos između serija opisan Modelom 1.

2.3 Rok trajanja

FDA-ov vodič za testiranje stabilnost predlaže da se rok trajanja određuje kao vremenska točka u kojoj 95% donja pouzdana granica za sredinu (eng. lower confidence bound) siječe donju specifikacijsku granicu farmaceutskog proizvoda. Specifikacijske granice možemo interpretirati kao dozvoljeno odstupanje od ciljane idealne vrijednosti.

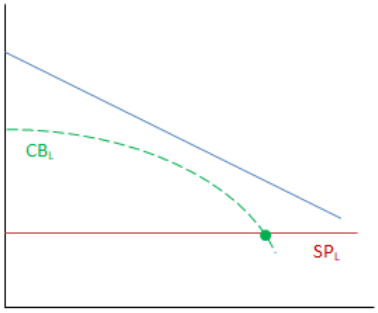
Pretpostavimo da se varijabilnost između serija opisuje Modelom 1. Unatoč početnoj pretpostavci da se promatrano svojstvo lijeka smanjuje s vremenom, moguće je i da svojstvo lijeka raste (degradacijska krivulja je pozitivna) ili da su jednostavno mogući i pad i rast promatranog svojstva lijeka kroz vrijeme. S obzirom na to da određivanje roka trajanja proizvoda ovisi o vrsti degradacijske krivulje, postoje tri načina određivanja roka trajanja.

Karakteristika proizvoda se smanjuje sa vremenom

Ako se karakteristika proizvoda smanjuje sa vremenom, tada je 95% jednostrana donja pouzdana granica za srednju CB_L dana sa $\hat{Y}_{ij} - t_{0.025}(df)\sqrt{\hat{V}(\hat{Y}_{ij})}$ gdje je $\hat{Y}_{ij}$ predviđena vrijednosti od Y_{ij}, $t_{0.025}(df)$ 95%-tni kvantil t distribucije sa df stupnjeva slobode, dok je $\hat{V}(\hat{Y}_{ij})$ procijenjena varijanca od $\hat{Y}_{ij}$, a S^2 srednjekvadratna pogreška.

$$\hat{V}(\hat{Y}_{ij}) = \frac{1}{n} + \left[\frac{(X_{ij} - \overline{X_{..}})^2}{\sum_{i=1}^{I}\sum_{j=1}^{n_i}(X_{ij} - \overline{X_{..}})^2}\right] s^2 \tag{2.8}$$

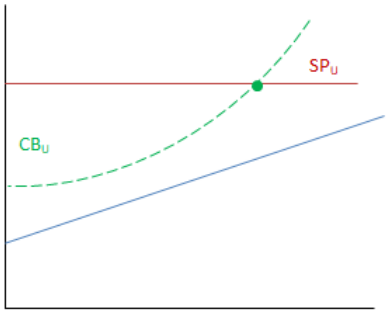
Rok trajanja se dobiva kao vremenska točka u kojoj donja pouzdana granica za srednju CB_L siječe donju specifikacijsku granicu SP_L.



Slika 2.2: 95% donji pouzdani interval sa donjom specifikacijskom granicom

Karakteristika proizvoda se povećava sa vremenom

Ako se karakteristika proizvoda povećava sa vremenom, tada je 95% jednostrana gornja pouzdana granica za srednju CB_U dana sa $\hat{Y}_{ij} + t_{0.025}(df)\sqrt{\hat{V}(\hat{Y}_{ij})}$. Slilčno kao i u prvom slučaju, rok trajanja se dobiva kao vremenska točka u kojoj gornja pouzdana granica za srednju CB_U siječe gornju specifikacijsku granicu SP_U.

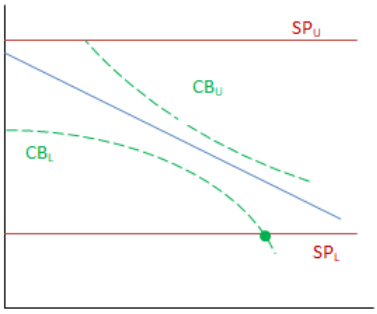


Slika 2.3: 95% gornji pouzdani interval sa gornjom specifikacijskom granicom

Karakteristika proizvoda se smanjuje ili povećava s vremenom

Ako se karakteristika proizvoda može povećati ili smanjiti tijekom vremena, tada je dvostrana 95% pouzdana granica za srednju dana da CB_L i CB_U, odnosno $\hat{Y}_{ij} \pm t_{0.025}(df)\sqrt{\hat{V}(\hat{Y}_{ij})}$.

U ovom slučaju rok trajanja se određuje kao minimalna vremenska točka u kojoj 95% pouzdane granice sijeku specfikacijske granice.



Slika 2.4: 95% donji i gornji pouzdani interval sa specifikacijskim granicama

Kao što je već rečeno, gornje razmatranje vrijedi samo ukoliko se varijabilnost između serija može opisati Modelom 1. U ostalim slučajevima pouzdani intervali mogu se konstruirati slično. U svim slučajevima će svaka serija imati zasebne 95% pouzdane intervale te će se promijeniti stupnjevi slobode i statistika, a prilikom određivanja konačnog roka trajanja, uzimati će se najmanja vremenska točka od svih testiranih serija, kako bi se osigurao jedinstven rok trajanja za sve serije. [6]

2.4 Primjer

Sada kada je argumentirana teorijska pozadina statističke analize stabilnosti sa fiksnim efektima, pogledajmo na primjeru kako ona uistinu funkcionira. Analiza je prevedena pomoću SAS makro programa izdanih od FDA još 1992. godine. Iako napisani krajem 20.og stoljeća, makro programi se i dalje koriste.

Provedena je analiza stabilnosti na 300-mg tabletama radi određivanja roka trajanja. Tablete iz pet serija su spremljene na sobnu temperaturu, te su se kroz 18 mjeseci (0,3,6,9,12,18) vršila mjerenja u svrhu testiranja efikasnosti lijeka. U tablici su dani rezultati mjerenja izraženi u postocima (tzv. percent of label claim). [1]

[1] Rezultati su preuzeti iz Shaw and Chaw (1944).Biometrics,50,753-763.

Tablica 2.2: Rezultati mjerenja (percent of label claim)

Vrijeme u mjesecima	Serija				
	1	2	3	4	5
0	104.8	103.9	103.5	101.5	106.1
3	102.5	101.9	102.1	100.3	104.3
6	101.5	103.2	101.9	101.1	101.5
9	102.4	99.6	100.3	100.6	101.1
12	99.4	100.2	99.2	100.7	99.4
18	96.5	98.8	101.0	98.4	98.2

Kao što je opisano u prethodnom poglavlju, testiraju se dvije hipoteze. Prvo hipoteza o jednakosti koeficijenata odrezaka, a zatim hipoteza o jednakosti koeficijenata nagiba. Provođenjem hipoteza donosi se zaključak pri kojem je odabran jedan od četiri modela (Model 1, Mosel 2, Model 3 ili Model 4). S obrziom da se Model 3 u pravilu vodi kao Model 4, zapravo postoje tri moguća odabira modela. Primijetimo da do svakog od tih modela možemo doći testiranjem sljedećih hipoteza:

A H_0 : Zajednički koeficijenti odrezaka i nagiba
H_1 : Različiti koeficijenti odrezaka i nagiba

B H_0 : Zajednički koeficijenti odrezaka i nagiba
H_1 : Različiti koeficijenti odrezaka i zajedniči koeficijenti nagiba

C H_0 : Različiti koeficijenti odrezaka i zajednički koeficijenti nagiba
H_1 : Različiti koeficijenti odrezaka i nagiba

Macro programi testiraju upravo gore navedene hipoteze i za svaku od njih računaju F-statistiku i p-vrijednost. Dakle, do odluke dolazimo promatrajući p-vrijednosti. Algoritam:

- Ako je p-vrijednost testa C manja od 0.25, odabiru se Model 3 ili Model 4
- Ako je p-vrijednost testa C veća ili jednaka od 0.25 provodi se test B
- Ako je p-vrijednost testa B manja od 0.25 tada je prikladan Model 2
- Aako je p-vrijednost testa B veća ili jednaka od 0.25, tada je prikladan Model 1

Stability Analysiy

TIME	1	2	3	4	5
0	104.8	103.9	103.5	101.5	106.1
3	102.5	101.9	102.1	100.3	104.3
6	101.5	103.2	101.9	101.1	101.5
9	102.4	99.6	100.3	100.6	101.1
12	99.4	100.2	99.2	100.7	99.4
18	96.5	98.8	101.0	98.4	98.2

Stability Analysiy

SOURCE	SS	DF	MS	F	P
A	22.33	8	2.79	2.90923	0.02513
B	5.59	4	1.40	1.45573	0.25281
C	16.75	4	4.19	4.36273	0.01068
D	19.19	20	0.96		
E	307333.14	10	30733.31		

****
* Statistical Analysis: *
* Key to sources of variation *
* A = sep. intercep, sep slope | com intercep, com slope *
* B = sep. intercep, com slope | com intercep, com slope *
* C = sep. intercep, sep slope | sep intercep, com slope *
* D = Residual *
* E = Full Model *
****

Stability Analysiy

95% One-Sided Lower Confidence Limit

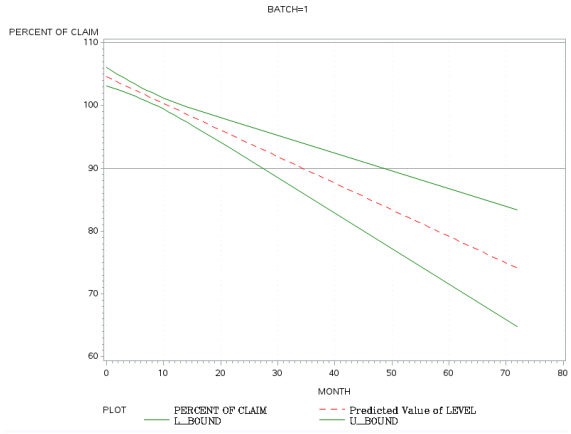
Separate Intercepts and Separate Slopes

BATCH	ESTIMATED DATING PERIOD (MONTHS/WEEKS)
1	27
2	33
3	41
4	51
5	28

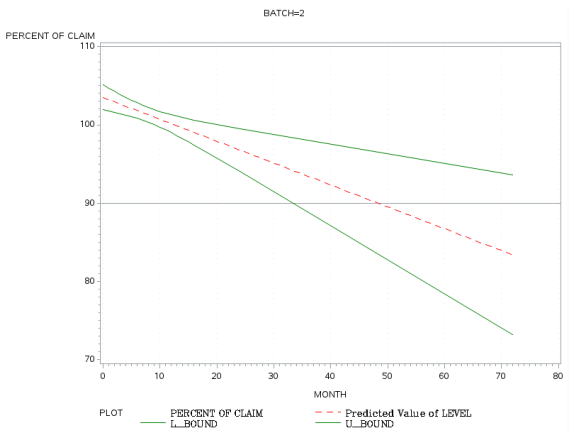
Slika 2.5: Izlaz FDA-ovih macro programa za provedbu analize stabilnosti

Provođenjem analize stabilnosti pomoću FDA-ovih SAS makro programa dobivamo tri izlazne tablice (slika 2.5). Prva tablica je samo ispis danih podataka, druga tablica je zapravo ona zanimljiva. Pogledajmo dobivene p-vrijednosti i prođimo kroz algoritam. P-vrijednost testa C je 0.01068 što je manje od 0.25. Stoga, Model 3 ili Model 4 su prikladni modeli. Sada kada je poznat model varijabilnosti između serija možemo odrediti rok trajanja danog lijeka. Ta informacija se nalazi u zadnjoj tablici. Za svaku od serija dan je broj mjeseci koji odgovara traženom roku trajanja. Znači, *serija 1* će 27 mjeseci nakon proizvodnje biti viša-manje jednako efikasna kao i na početku proizvodnje, dok će npr. *serija 4* čak 51 mjesec zadržati odgovarajuću efikasnost. Velika je razlika između upravo ta dva roka trajanja, a ideja roka trajanja je upravo ta da se jedan rok trajanja može primijeniti na sve serije. Zato se za konačan rok trajanja uzima onaj najmanji rok trajanja. U ovom primjeru je to 27 mjeseci.

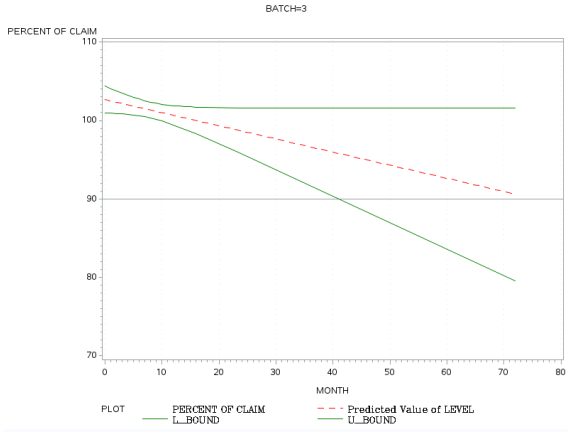
Znamo da se svaki od tih rokova trajanja dobiva se na temelju pouzdanih intervala. Na sljedećoj slici (2.6), mogu se vidjeti pouzdani intervali svake serije zajedno sa regresijskim pravcem i specifikacijskim granicama. Prisjetimo se, rok trajanja je vrijeme kada pouzdane granice presijecaju specifikacijske granice.



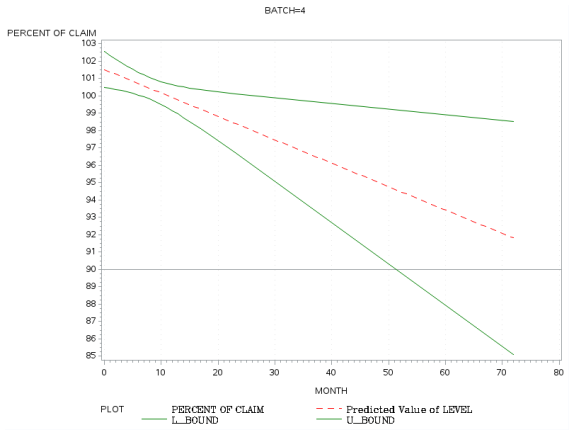
(a) Serija 1



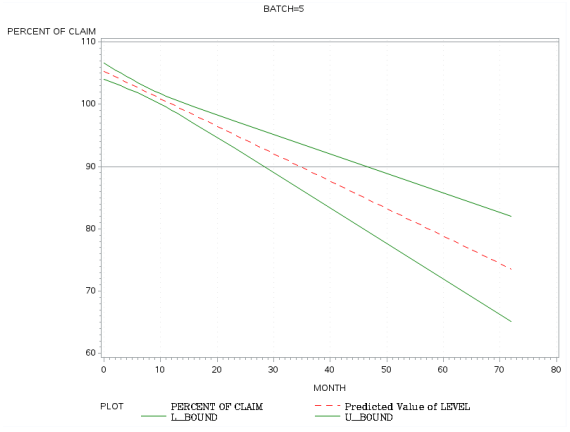
(b) Serija 2



(c) Serija 3



(d) Serija 4



(e) Serija 5

Slika 2.6: 95% pouzdani intervali serija za srednju vrijednost degradacijske krivulje

Poglavlje 3

Random Effect: određivanje roka trajanja farmaceutskih proizvoda

Kao što je već rečeno, serije na kojima se provodi dugoročno ispitivanje stabilnosti za utvrđivanje roka trajanja, trebaju predstavljati slučajan uzorak svih budućih proizvedenih serija. Također, svi predviđeni rokovi trajanja trebaju biti primijenjivi za sve buduće proizvedene serije. Metoda određivanja roka trajanja sa fiksnim efektima se u ovom slučaju pokazala neprimjerenom. Koristeći pretpostavku da su regresijski koeficijenti (nagib i odrezak) fiksni efekti, svi zaključci, uključujući i rok trajanja su valjani isključivo za promatrane serije, nikako za buduće. Zato se uvodi metoda sa slučajnim efektima. Sada koeficijenti odrezaka i nagiba više neće biti "nepoznati parametri" pomoću kojih se opisuje degradacijska krivulja, već slučajne varijable. Model jednostavne linearne regresije sa slučajnim koeficijetima zapisujemo kao

$$Y_{ij} = \alpha_i + \beta_i X_{ij} + \varepsilon_{ij} \tag{3.1}$$

pri čemu su α_i i β_i slučajni efekti, a ε_{ij} slučajna pogreška. Očekivano i ova vrsta modela linearne regresije ima neke pretpostavke: svi slučajni efekti moraju biti nezavisni, uzorkovanje uzoraka mora biti jednako u svim serijama i svi slučajni efekti moraju biti normalno distrubuirani, odnosno

$$\alpha_i \sim N(a, \sigma_a^2), \qquad \beta_i \sim N(b, \sigma_b^2), \qquad \varepsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2) \tag{3.2}$$

[2]

Zbog varijabilnosti slučajnih komponenti, pouzdani intervali su širi nego u slučaju opisanom u prethodnom poglavlju. Stoga se provodi metoda maksimalne vjerodostojnosti za dobivanje procjenitelja svakog parametra, nakon čega se konstruiraju pouzdani intervali. Radi navedenih pretpostavki modela 3.1 slijedi

$$\mathbb{E}(Y_{ij}) = \mathbb{E}\alpha_i + \beta_i X_{ij} + \varepsilon_{ij} = a + bX_{ij}$$
$$Var(Y_{ij}) = Var(\alpha_i + \beta_i X_{ij} + \varepsilon_{ij}) = \sigma_a^2 + \sigma_b^2 X_{ij}^2 + \sigma^2$$

Zbog međusobne nezavisnosti ε_{ij} vrijedi

$$Cov(Y_{ij}, Y_{ij'}) = Cov(\alpha_i + \beta_i X_{ij} + \varepsilon_{ij}, \alpha_i + \beta_i X_{ij'} + \varepsilon_{ij}) = \sigma_a^2 + \sigma_b^2 X_{ij} X_{ij'}.$$

Neka su I_i i J_i jedinične matrice reda $n_i \times n_i$, te neka su

$$\underline{Y}_i = \begin{bmatrix} Y_{1j} \\ Y_{2j} \\ \vdots \\ Y_{in_i} \end{bmatrix} \qquad \underline{X}_i = \begin{bmatrix} X_{1j} \\ X_{2j} \\ \vdots \\ X_{in_i} \end{bmatrix}$$

$\underline{Y}_i$ je vektor koji sadrži infromacije o postotku efektivnosti lijeka, a $\underline{X}_i$ je vektor sa vremenskim točkama u kojima se skupljaju vrijesnosti o efektivnosti lijeka. Prema tome, kovarijcijska matrica observacijskog vektora i-te serije jednaka je

$$Cov(\underline{Y}_i) = \sigma^2 I_i + \sigma_a^2 J_i + \sigma_b^2 \underline{X}_i \underline{X'}_i.$$

Označimo $\mathbb{B}(Y_{ij}) = \underline{\tau}_i$. Sada je funkcija vjerodostojnosti za i-tu seriju dana sa

$$L(\underline{Y}_i) = \left[\frac{1}{|2\pi\Sigma_i|} \right]^{n_i/2} e^{(-1/2)(\underline{Y}_i - \tau_i)' \Sigma_i^{-1} (\underline{Y}_i - \underline{\tau}_i)}. \tag{3.3}$$

Primijetimo da su serije međusobno nezavisne, zbog čega vrijedi

$$L(\underline{Y}_1, \underline{Y}_2, ..., \underline{Y}_n) = L(\underline{Y}_1) L(\underline{Y}_2) ... L(\underline{Y}_n). \tag{3.4}$$

Zatim, Σ_i su jednake za sve i, pa je log-vjerodostojnost svih opažanja

$$lnL = -\sum_{i=1}^{k} \frac{n_i}{2} ln\,|2\pi| - \sum_{i=1}^{k} \frac{n_i}{2} ln\,|\Sigma_i| - \frac{1}{2} \sum_{i=1}^{k} (\underline{Y}_i - \tau_i) \Sigma_i^{-1} (\underline{Y}_i - \underline{\tau}_i) \tag{3.5}$$

Na kraju, maksimizacijom funkcije log-vjerodostojnosti dobivaju se traženi procijenitelji.

Prvi korak u analizi je ustanoviti variabilnosti između serija. Ako je $\sigma_a^2 = \sigma_b^2 = 0$ tada se model jednostavne linearne regresije sa slučajnim koeficijentima svodi na Model 1. Ako je $\sigma_a^2 > 0$ i $\sigma_b^2 = 0$, tada se model svodi na sljedeći model

$$Y_{ij} = a + bX_{ij} + \varepsilon_{ij}^*$$

gdje je $\varepsilon_{ij}^* = \alpha_i - a + \varepsilon_{ij}$, te je normalno distribuirana sa očekivanjem 0 i varijancom $\sigma_a^2 + \sigma^2$, tj. $\varepsilon_{ij}^* \sim N(0, \sigma_a^2 + \sigma^2)$. U oba slučaja za određivanje roka trajanja i dalje se može korisiti metoda najmanjih kvadrata. Ali kada je $\sigma_b^2 > 0$ metoda najmanjih kvadrata postaje neprimjerena, te se koristi metoda maksimalne vjerodostojnosti. Iz tog razloga od velike je važnosti na samom početku analze stabilnosti testirati da li je $\sigma_b^2 = 0$ kako bi se primijenila odgovarajuća metoda za dobivanje pouzdanih intervala i roka trajanja. [6]

Poglavlje 4

Monte-Carlo simulacija

Monte-Carlo simulacije (MC) su stohastičke, simulacijske metode koje pomoću slučajnih i pseudoslučajnih brojeva predviđaju ponašanje matematičkih modela. [9] One nisu primarno statistički alat, ali pomoću njih se mogu lakše razumjeti i ispitati statistički problemi. MC simulacije se primjenjuju kada je teško ili nemoguće ispitati ponašanje modela numeričkim i analitičkim metodama, te kada se barem jedna varijabla ponaša slučajno. Jezgra MC simulacija su slučajni i pesudoslučajni brojevi, koji se generiraju po nekoj distribuciji (normalnoj, uniformnoj, gama itd.). U statistici je često predmet ispitivanja robusnost statističkog testa na odstupanje od pretpostavki modela i upravo je to predmet daljnje diskusije.

Provodimo Monte-Carlo eksperiment za testiranje varijabilnosti između serija kada su modeli "sastavljeni" od jednostavnih linearnih modela sa fiksnim koeficijentima. Takvi matematički modeli su opisani u drugom poglavlju. Prisjetimo se pretpostavke o distribuciji pogreške, ona mora biti normalno distribuirana sa očekivanjem 0. Dakle, promatramo ponašanje odabira modela (Model 1 - Model 4) s obzirom na promjene u distribuciji pogreške mijenjanjem standardne devijacije, koeficijenata asimetrije i spljoštenosti. Zatim variramo vrijednosti populacijskih regresijskih koeficijenata, broj uzorkovanja te veličinu uzoraka po seriji. Veličina uzorka je zanimljiva jer je uobičajeno provoditi analizu stabilnosti na malim uzorcima. Konkretno, provodimo eksperiment za sve kombinacije vrijednosti navedenih faktora. Za veličine uzoraka $n = 5, 6, 8, 10$ generiramo slučajne brojeve ε iz distribucija $N(0, 1)$, $N(0, 2^2)$ i $N(0, 5^2)$ s koeficijentima asimetrije (γ_1) i spljoštenosti (γ_1): $\gamma_1 = 0$, $\gamma_2 = 0$ i $\gamma_1 = 2, \gamma_2 = 9$, te slučajne brojeve iz standardizirane gamma distribucije (*shape=0.5*).

Generiramo podatke za tri serije [1] ($j = 1, 2, 3$) po modelima:

$$y_j = \beta_{0j} + \beta_{1j}x + \varepsilon \tag{4.1}$$

[1] Kod dugoročnog ispitivanja stabilnosti uobičajeno je provoditi testiranje s tri serije. Napomenimo da je za provođenje analize stabilnosti potrebno provesti istraživanje na tri ili više serija.

gdje je x vrijeme u mjesecima zadano sa vrijednostima:
$0, 6, 12, 24, 36$ (za $n = 5$)
$0, 3, 6, 12, 24, 36$ (za $n = 6$)
$0, 3, 6, 9, 12, 18, 24, 36$ (za $n = 8$)
$0, 1, 3, 6, 9, 12, 18, 24, 30, 36$ (za $n = 10$)

a populacijski regresijski koeficijenti imaju vrijednosti:

I		*II*		*III*	
$\beta_{01} = 100$	$\beta_{11} = -0.17$	$\beta_{01} = 99$	$\beta_{11} = -0.17$	$\beta_{01} = 99$	$\beta_{11} = -0.17$
$\beta_{02} = 100$	$\beta_{12} = -0.17$	$\beta_{02} = 101$	$\beta_{12} = -0.17$	$\beta_{02} = 101$	$\beta_{12} = 0$
$\beta_{03} = 100$	$\beta_{13} = -0.17$	$\beta_{03} = 103$	$\beta_{13} = -0.17$	$\beta_{03} = 103$	$\beta_{13} = 0.17.$

Za svaku kombinaciju faktora izvodimo 500 replikacija, te za svaki uzorak na razini značajnosti od 25%, provodimo testove hipoteza 2.2 i 2.3 :

$$\begin{aligned} &H_{01} : \beta_{11} = \beta_{12} = \beta_{13} \\ &H_{02} : \beta_{01} = \beta_{02} = \beta_{03} \quad \text{ukoliko nije odbačena hipoteza } H_{01} \end{aligned} \tag{4.2}$$

Na kraju, za svaki model (I,II,III) izračunamo postotak uzoraka za koje su odbačene navedene nulte hipoteze, tj. računamo broj uzoraka za koje su odabrani modeli:

A) Model 1: jedan zajednički pravac

B) Model 2: paralelni pravci

C) Model 3: tri različita pravca.

Napomena 4.0.1. *Podaci su generirani u programu SAS, a kod je dan u dodatku na kraju rada. Za generiranje nenormalnih varijabli $N(0, 1)$, $N(0, 2^2)$ i $N(0, 5^2)$ sa navedenim koeficijentima asimetrije (γ_1) i spljoštenosti (γ_1) korištena je Fleishmanova metoda polinomijalne transformacije:*

$$Y = a + bZ + cZ^2 + dZ^3$$

gdje su a, b, c, d koeficijenti transformacije, a Z standardna normalna slučajna varijabla. SAS macro program za generiranje Fleishman metodom preuzet je iz knjige SAS for Monte Carlo Studies: A Guide for Quantitative Researchers [3].

Provođenje hipoteza za testiranje varijabilnosti između serija te utvrđivanje roka trajanja temelji se na SAS macro programima izdanih od strane FDA, a preuzetih iz knjige "Statistical Design and Analysis of Stability Studies" autora Shein-Chung Chow.

4.1 Rezultati eksperimenta

Pogledajmo rezultate eksperimenta. Rezultati su dani u tablicama u postocima. Proučava se postotak odabranog modela s obzirom na distrubuciju iz koje dolazi slučajna pogreška modela 4.1.

Veličina uzorka = 5

Tablica 4.1: Veličina uzorka = 5, generirano po modelu 1

	γ_1=0 γ_2=0			γ_1=2 γ_2=9			
I	$N(0,1)$	$N(0,2^2)$	$N(0,5^2)$	$N(0,1)$	$N(0,2^2)$	$N(0,5^2)$	Stand.gama
MODEL 1	76.20	8.40	76.00	25.00	18.00	86.30	95.00
MODEL 2	22.20	41.20	22.40	62.40	0.80	12.60	4.00
MODEL 3	1.60	50.40	1.60	12.60	81.20	1.20	1.00

Tablica 4.2: Veličina uzorka = 5, generirano po modelu 2

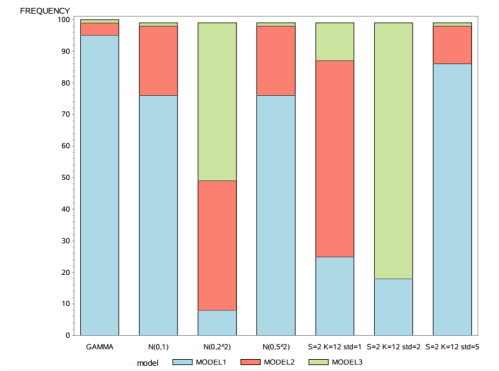
	γ_1=0 γ_2=0			γ_1=2 γ_2=9			
II	$N(0,1)$	$N(0,2^2)$	$N(0,5^2)$	$N(0,1)$	$N(0,2^2)$	$N(0,5^2)$	Stand.gama
MODEL 1	0	0	0	0	0	0	0
MODEL 2	27.60	9.60	99.60	90.00	50.20	60.40	9.20
MODEL 3	72.40	90.40	0.40	10.00	49.80	39.60	90.80

Tablica 4.3: Veličina uzorka = 5, generirano po modelu 3

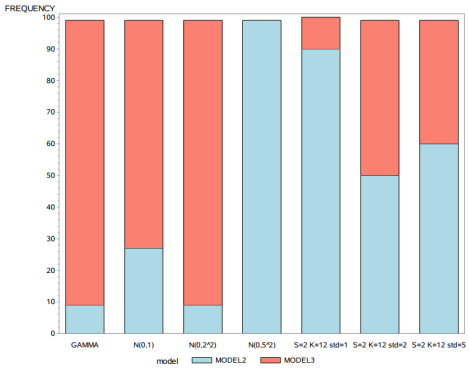
	γ_1=0 γ_2=0			γ_1=2 γ_2=9			
III	$N(0,1)$	$N(0,2^2)$	$N(0,5^2)$	$N(0,1)$	$N(0,2^2)$	$N(0,5^2)$	Stand.gama
MODEL 1	0	0	0	0	0	0	0
MODEL 2	0	0.80	1.00	0	0.40	3.00	0
MODEL 3	100	99.20	99.00	100.00	99.60	97.00	100.00

Pogledajmo podatke iz prve tablice 4.1. Generirani su podaci po *modelu I*. Prisjetimo se da je pretpostavka modela 2.1 normalnost slučajne pogreške. Stoga očekujemo da će se generiranjem normalne pogreške većina uzoraka moći opisati upravo Modelom 1 (slika 4.1a). Očekivanja su se ispunila u slučajevima kada je standardna devijacija jednaka 1 i 5. Tada je u 76% slučajeva odabran upravo model 1 kao onaj prikladan. U slučaju kada je standardna devijacija 2, dobivamo zanimljivo drugačiji rezultat. Svega 8.4% uzoraka se

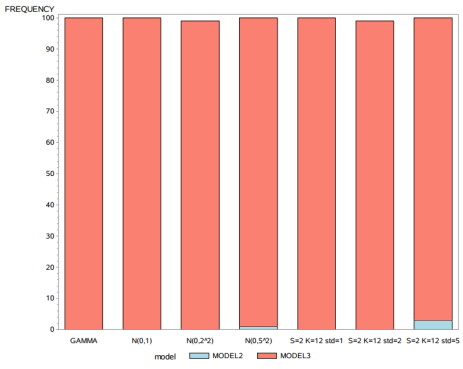
može opisati modelom 1. Relativno mali postotak postiže se i kod nenormalnih distribucija kada su standardne devijacije 1 i 2, ali to je očekivano jer je narušena pretpostavka o normalnosti pogreške. Pogreška generirana iz distribucije $N(0, 5^2)$ sa koeficijentima asimetrije i spljoštenosti $\gamma_1 = 2$ i $\gamma_2 = 9$ postigla postotak modela 1 od čak 86.30%,a standardizirana gama čak 95%. Ne možemo reći da su zadnja dva navedena rezultata očekivana, ali unatoč tome ne znači da su takvi rezultati loši. Pogledajmo sljedeću tablicu. Sada su podaci generirani po modelu 2. Generiranjem pogreške kao normalne distribucije sa standardnom devijacijom 1 i 2 ne dobivaju se baš dobri rezultati, dok je sa standardnom devijacijom 5, čak 99.60% modela uspješno detektirano. Zanimljivo je da nenormalna i standardizirana gama distribucija daju bolji rezultat od normalne. U zadnjoj tablici se nalaze rezultati dobiveni generiranjem po modelu 3. Vidimo da se taj model uspješno detektira u svim slučajevima, bez obzira na distribuciju. Svi rezultati su prikazani grafički na slikama. Dobiveni rezultati su malo zbunjujući i neočekivani. Pogledajmo rezultate kada je uzorak veličine 6.



(a) Barchart podataka iz tablice 4.1



(b) Barchart podataka iz tablice 4.2



Slika 4.2: Barchart podataka iz tablice 4.3

Veličina uzorka = 6

Tablica 4.4: Veličina uzorka = 6, generirano po modelu 1

	γ_1=0 γ_2=0			γ_1=2 γ_2=9			
I	$N(0,1)$	$N(0,2^2)$	$N(0,5^2)$	$N(0,1)$	$N(0,2^2)$	$N(0,5^2)$	Stand.gama
MODEL 1	95.00	87.00	15.40	89.00	21.80	61.80	93.80
MODEL 2	2.60	2.60	70.80	8.20	16.40	5.20	4.00
MODEL 3	2.40	10.40	13.80	2.80	61.80	33.00	2.20

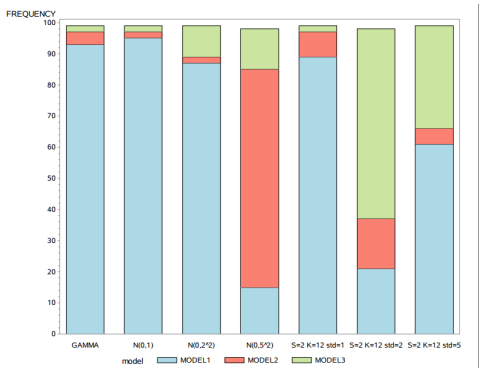
Tablica 4.5: Veličina uzorka = 6, generirano po modelu 2

	γ_1=0 γ_2=0			γ_1=2 γ_2=9			
II	$N(0,1)$	$N(0,2^2)$	$N(0,5^2)$	$N(0,1)$	$N(0,2^2)$	$N(0,5^2)$	Stand.gama
MODEL 1	0	0	0.20	0	0	0.50	0
MODEL 2	90.00	61.40	99.00	47.50	97.50	96.50	27.40
MODEL 3	10.00	38.60	0.80	52.50	2.50	3.00	72.60

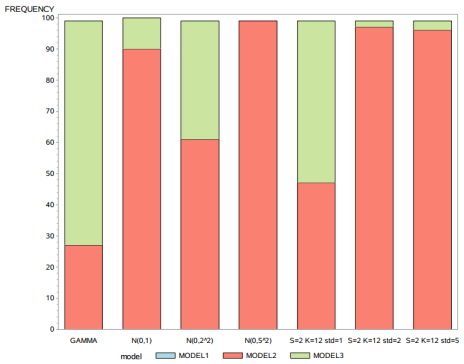
Tablica 4.6: Veličina uzorka = 6, generirano po modelu 3

	γ_1=0 γ_2=0			γ_1=2 γ_2=9			
III	$N(0,1)$	$N(0,2^2)$	$N(0,5^2)$	$N(0,1)$	$N(0,2^2)$	$N(0,5^2)$	Stand.gama
MODEL 1	0	0	0	0	0	0	0
MODEL 2	0	1.00	1.00	0	0.20	1.40	0
MODEL 3	100	99.00	98.00	100.00	99.8	98.60	100.00

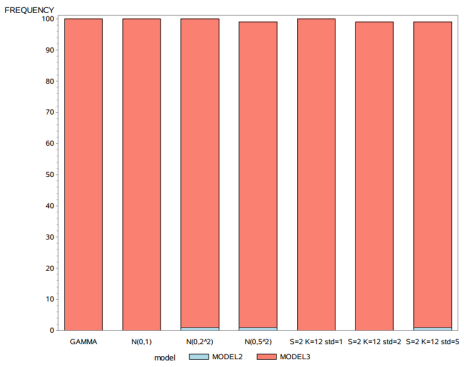
Ponovo promatramo prvo podatke generirane modelom 1 (tablica 4.4). Distribucije $N(0,1)$ i $N(0,2^2)$ pokazuju očekivane rezultate. U više od 87% slučajeva je detektiran model 1, dok $N(0,5^2)$ u samo 15.40% uzoraka prepoznalo da su podaci došli iz modela 1. Kada je slučajna pogreška generirana po nenormalnalnoj distribuciji $N(0,1)$ sa koeficijentima asimetrije i spljoštenosti, 2 i 9, za 89% uzoraka se pokazalo da zadovoljavaju uvjete modela 1. Visok postotak imaju i nenormalna pogreška sa standardnom devijacijom 5, te standardizirana gama distribucija. U tablici 4.5 vidimo dosta dobro ponašanje kada je u pitanju normalna distribuiranost pogreške, pa čak i nenormalna sa standardnim devijacijama 2 i 5. Standardizirana gama i nenormalna distribucija sa standardnom devijacijom 1 su dale nešto lošije rezultate. Kao i u slučaju kada je veličina uzorka bila 5, u zadnjoj tablici 4.6 vidimo da bez obzira na distribuciju većina uzoraka je korektno prepoznata kao model 3. Rezultati su prikazani grafički.



Slika 4.3: Barchart podataka iz tablice 4.4



Slika 4.4: Barchart podataka iz tablice 4.5



Slika 4.5: Barchart podataka iz tablice 4.6

Veličina uzorka = 8

Tablica 4.7: Veličina uzorka = 8, generirano po modelu 1

	γ_1=0 γ_2=0			γ_1=2 γ_2=9			
I	$N(0,1)$	$N(0,2^2)$	$N(0,5^2)$	$N(0,1)$	$N(0,2^2)$	$N(0,5^2)$	Stand.gama
MODEL 1	95.80	26.40	15.80	78.60	12.00	14.80	89.00
MODEL 2	0	72.40	6.00	9.80	41.20	31.20	10.60
MODEL 3	4.20	1.20	78.20	11.60	46.80	54.00	0.40

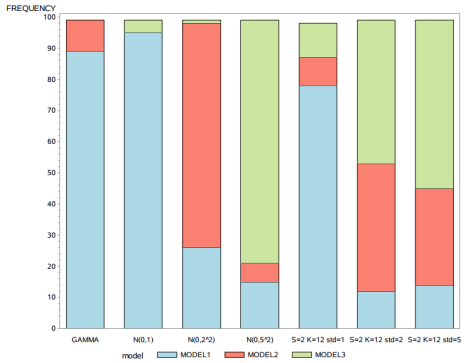
Tablica 4.8: Veličina uzorka = 8, generirano po modelu 2

	γ_1=0 γ_2=0			γ_1=2 γ_2=9			
II	$N(0,1)$	$N(0,2^2)$	$N(0,5^2)$	$N(0,1)$	$N(0,2^2)$	$N(0,5^2)$	Stand.gama
MODEL 1	0	0	0	0	0	0	0
MODEL 2	73.40	32.80	95.60	98.60	44.20	35.80	96.80
MODEL 3	26.60	67.20	4.40	1.40	55.20	64.20	3.20

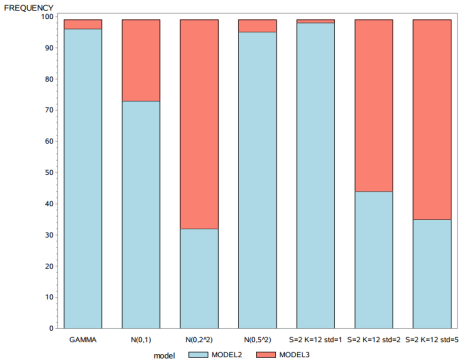
Tablica 4.9: Veličina uzorka = 8, generirano po modelu 3

	γ_1=0 γ_2=0			γ_1=2 γ_2=9			
III	$N(0,1)$	$N(0,2^2)$	$N(0,5^2)$	$N(0,1)$	$N(0,2^2)$	$N(0,5^2)$	Stand.gama
MODEL 1	0	0	0	0	0	0	0
MODEL 2	0	0.50	3.60	0	0.50	0	0
MODEL 3	100	99.5	96.4	100	99.5	100	100

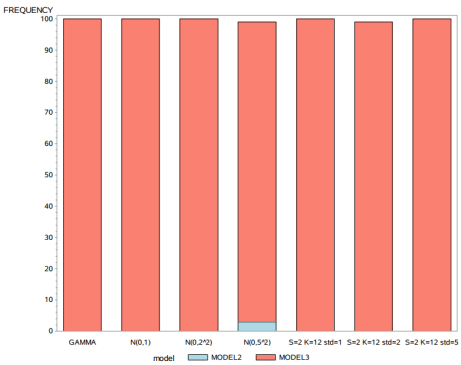
U tablici 4.7 vidimo da kada je slučajna pogreška $N(0,1)$ distribucije da je tada u 95.8% slučajeva uspješno detektiran model 1. Veliki postotak ima i nenormalna distribucija sa standardnom devijacijom 1 te standardizirana gama distribucija. U ostalim slučajevima je postotak modela 1 dosta mali. Nešto bolja situacija je u tablici 4.8. Kada je slučajna pogreška generirana po distribucijama $N(0,1)$, $N(0,5^2)$, standardiziranoj gama, te nenormalnoj sa standardnom devijacijom 1, model 2 se uspješno detektirao. Ipak je zanimljivo da $N(0,1)$ ima manji postotak od ostalih distribucija jer ona ipak "više" zadovoljava pretpostavke početnog modela. Tablica 4.9 daje gotovo iste rezultate kao i u prethodnim slučajevima kada su veličine uzorka bile 5 i 6.



Slika 4.6: Barchart podataka iz tablice 4.7



Slika 4.7: Barchart podataka iz tablice 4.8



Slika 4.8: Barchart podataka iz tablice 4.9

Veličina uzorka = 10

Tablica 4.10: Veličina uzorka = 10, generirano po modelu 1

	γ_1=0 γ_2=0			γ_1=2 γ_2=9			
I	$N(0,1)$	$N(0,2^2)$	$N(0,5^2)$	$N(0,1)$	$N(0,2^2)$	$N(0,5^2)$	Stand.gama
MODEL 1	20.40	0	96.20	56.80	29.40	39.40	25.20
MODEL 2	50.20	94.80	11.60	35.60	12.60	57.60	56.20
MODEL 3	29.40	5.20	2.20	7.60	58.00	30.00	18.60

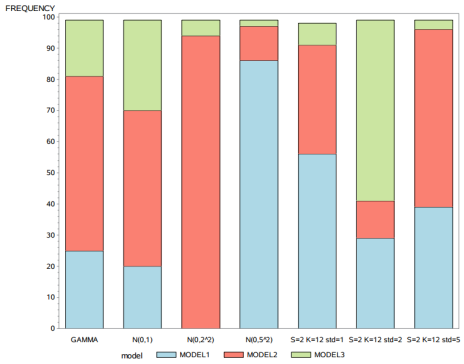
Tablica 4.11: Veličina uzorka = 10, generirano po modelu 2

	γ_1=0 γ_2=0			γ_1=2 γ_2=9			
II	$N(0,1)$	$N(0,2^2)$	$N(0,5^2)$	$N(0,1)$	$N(0,2^2)$	$N(0,5^2)$	Stand.gama
MODEL 1	0	0	0	0	0	0	0
MODEL 2	42.20	87.60	94.00	98.00	81.20	54.00	99.00
MODEL 3	57.80	12.40	6.00	2.00	18.80	46.00	1.00

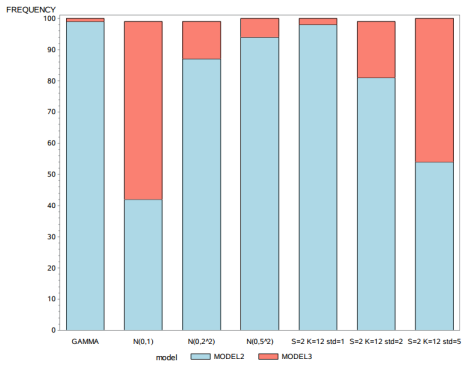
Tablica 4.12: Veličina uzorka = 10, generirano po modelu 3

	γ_1=0 γ_2=0			γ_1=2 γ_2=9			
III	$N(0,1)$	$N(0,2^2)$	$N(0,5^2)$	$N(0,1)$	$N(0,2^2)$	$N(0,5^2)$	Stand.gama
MODEL 1	0	0	0	0	0	0	0
MODEL 2	0	0.20	0	0	0	1.00	0
MODEL 3	100.00	99.80	100.00	100.00	100.00	99.00	100.00

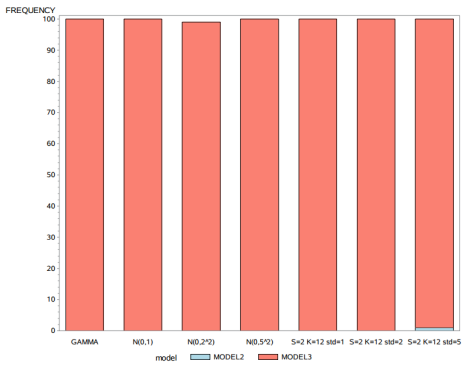
Promotrimo tablicu 4.10. Samo kada je pogreška generirana po $N(0,5^2)$ distribuciji imamo neki veći postotak. U svim ostalim slučajevima, osim kada je pogreška nenormalno distribuirana sa standardnom devijacijom 1, su postoci odabira modela 1 dosta mali, čak i kada je zadovoljena pretpostavka o normalnosti pogreške. Bolja situacija je kada su podaci generirani o modelu 2 u tablici 4.11, ali opet je izuzetak $N(0,1)$ distribucija, koja bi očekivano trebala imati najveći postotak. U zadnjoj tablici 4.12 je ponovo ista situacija kao kada su veličine uzoraka bile 5,6 i 8, čak i malo bolja. Rezultati su prikazani grafički.



Slika 4.9: Barchart podataka iz tablice 4.10



Slika 4.10: Barchart podataka iz tablice 4.11



Slika 4.11: Barchart podataka iz tablice 4.12

4.2 Zaključak

Nakon provedenog eksperimenta ne možemo reći da distribucija pogreške ne utječe na odabir modela, odnosno na testiranje hipoteza 2.2 i 2.3, ali je isto tako teško pronaći neko pravilo kako se ponaša taj "sustav" sastavljen od tih dviju hipoteza. Krenimo prvo sa analizom utjecaja veličine uzoraka. U slučaju kada je veličina uzorka jednaka 6, dobiva se dojam da su rezultati nekako više očekivani, nego kada je uzorak veličine 5. To nam prirodno nameće pitanje hoće li veći broj uzoraka davati očekivanije rezultate? Ispostavilo se da neće, barem ne kada je potrebno detektirati model 1. Sa povećanjem uzorka, smanjivao se postotak odbira modela 1. Nešto lakše je bilo ustanoviti mogu li se podaci opisati modelom 2, osim u slučaju kada je uzorak bio veličine 5, dok se sa najvećim postotkom detektira model 3. Dakle možemo reći da veličina uzorka ima utjecaj na veličinu stabilnosti, te da je optimalna veličina uzorka 6. Sada na temelju toga možemo donositi daljnje zaključke vezane uz distribuciju pogreške. Poštivanje pretpostavke modela, odnosno generiranje slučajne pogreške po normalnoj distribuciji, generalno uistinu daje bolje rezultate od ostalih distribucija, tako da ne možemo reći da je test varijabilnosti između serija robustan s obzirom na distribuciju pogreške.

4.3 Dodatak eksperimentu*

Glavna ideja provedenog eksperimenta je bila ustanoviti utjecaj veličine uzorka i distribucije pogreške na ishod testa varijabilnosti između serija. Ali glavna ideja cijele statističke analize stabilnosti je utvrđivanje roka trajanja farmaceutskog proizvoda. Stoga ćemo pogledati distribucije roka trajanja s obzirom na veličinu uzorka i distribuciju pogreške.

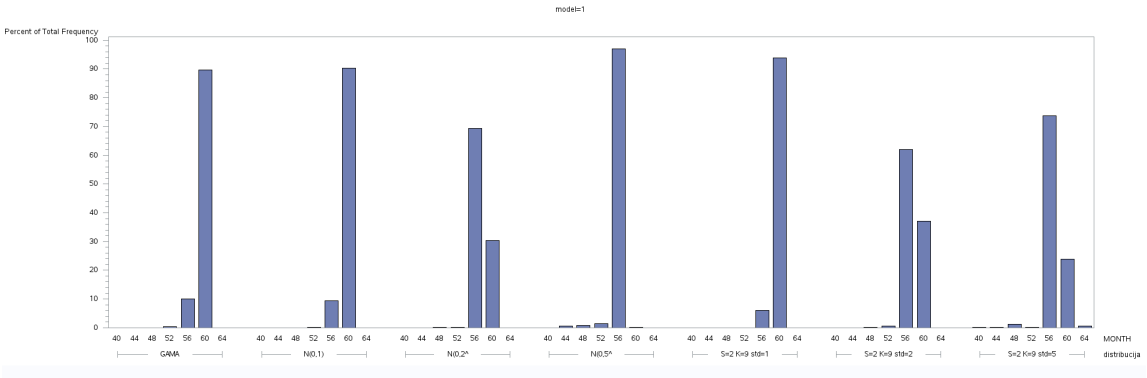
Vrijeme roka trajanja dano je u mjesecima, odnosno broj govori koliko mjeseci od proizvodnje lijeka će lijek zadržati tražena svojstva. Podaci su prikazani grafički. Svaki graf prikazuje distribuciju roka trajanja s obzirom na distribuciju pogreške, veličinu uzorka, te model po kojemu su generirani podaci.

Pogledajmo distribucije roka trajanja kada su podaci generirani po modelu 1. Kada je veličina uzorka 5, tada se rokovi trajanja po distribucijama izmjenjuju sa 56 i 60 mjeseci, dok kod uzorka veličine 6 prevladava rok trajanja od 60 mjeseci, a za veličine uzoraka 8 i 10 je rok trajanja 57 mjeseci i to u svim slučajevima. Čini se da je krajini rezultat analize stabilnosti dosta stabilan s obzirom na distribuciju pogreške. Taj zaključak se narušava samo kada je veličina uzorka jednaka 5. Ali nakon svega dosada viđenog, možemo zaključiti da uzorak veličine 5 nije dovoljno velik za provođenje analize stabilnosti. Pogledajmo uzorke generirane po modelu 2. Vidimo da odskaču po tri stupića u svakoj distribuciji i u svim veličinama uzoraka. I to je očekivano. Prisjetimo se, Model 2 se sastoji od tri paralelna pravca i svaki pravac će dati svoj rok trajanja, te s na kraju uzima onaj najmanji broj mjeseci za koji lijek ne gubi određena svojstva. Kada su veličine uzoraka 6 i 8, tada su rokovi

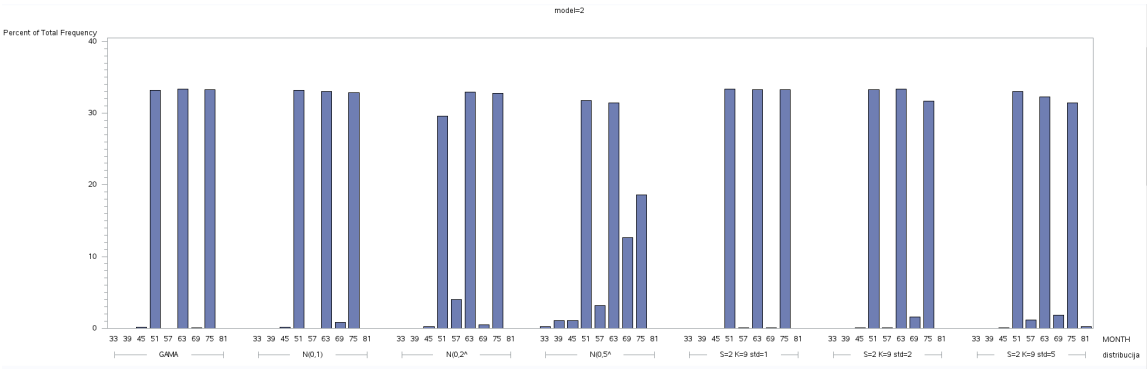
trajanja svake serije redom 51 mjesec, 63 mjeseca i 75 mjeseci. Uzorci veličina 5 i 10 su nešto drugačiji, ali ne bitno drugačiji. Sada možemo pogledati i podatke generirane po modelu 3. Oni su dani u tablicama radi lakše preglednosti. U svim slučajevima prevladava da rok trajanja iznosi 84 mjeseca, što znači da je u slučaju modela 3 cijela analiza stabilnosti izrazito stabilna.

Zaključak

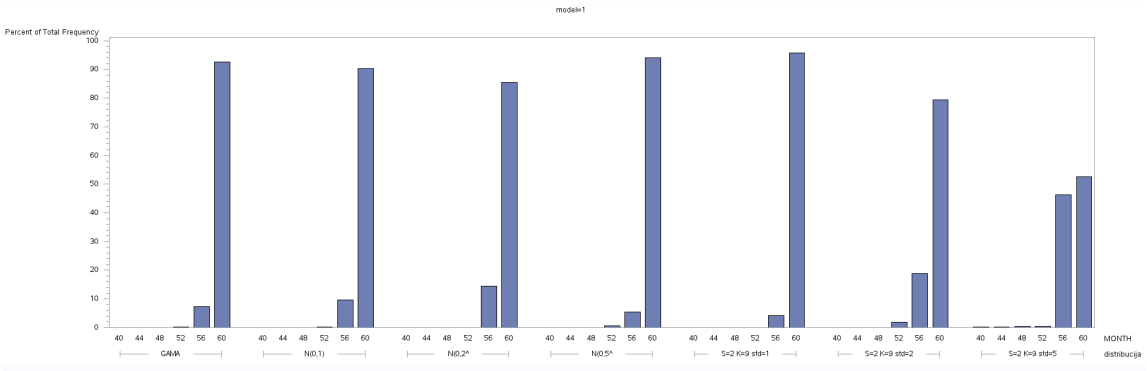
Određivanje roka trajanja je puno stabilnije s obzirom na distribuciju u odnosu na testiranje varijabilnosti, dok veličina uzorka ipak ima dosta velik utjecaj. Ponovo se stvara dojam da je uzorak veličine 6 optimalan za analizu stabilnosti. Iako ni uzorak veličine 8 ne odskače od njegovih rezultata, Monte Carlo studija za testiranje varijabilnosti između serija je dala lošije rezultate u odnosu na uzorak veličine 6.



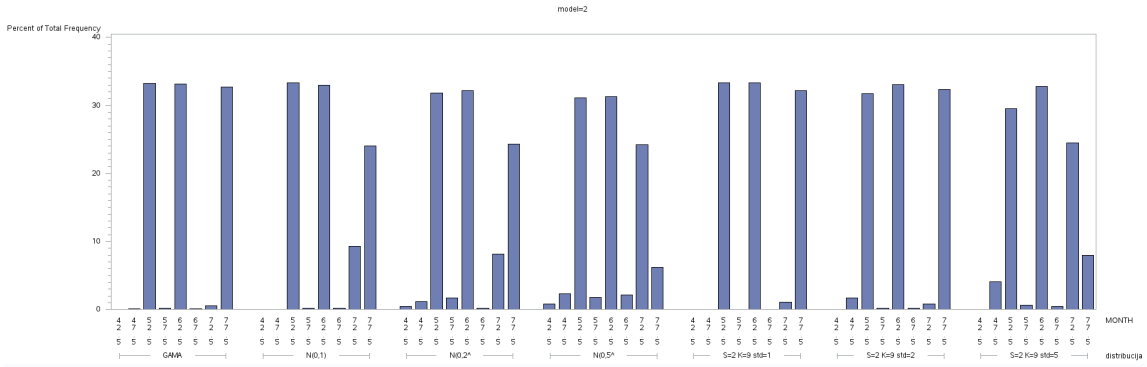
Slika 4.12: Uzorci veličine 5 generirani po modelu 1



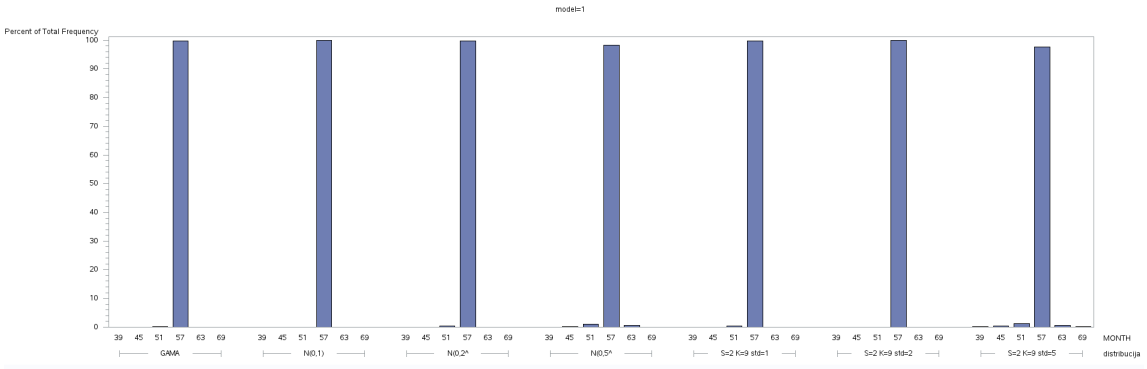
Slika 4.13: Uzorci veličine 5 generirani po modelu 2



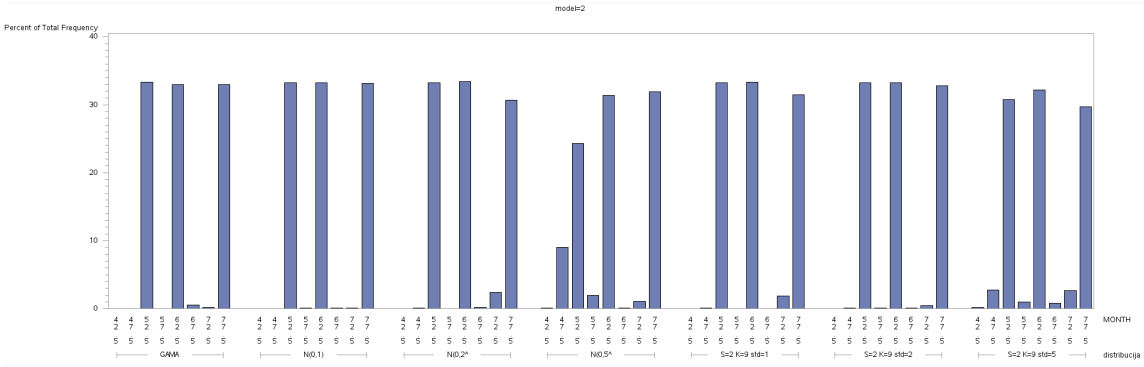
Slika 4.14: Uzorci veličine 6 generirani po modelu 1



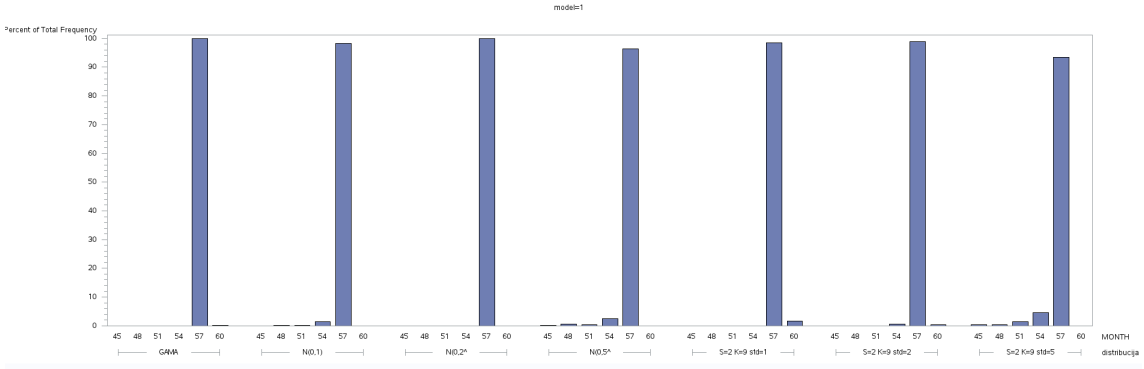
Slika 4.15: Uzorci veličine 6 generirani po modelu 2



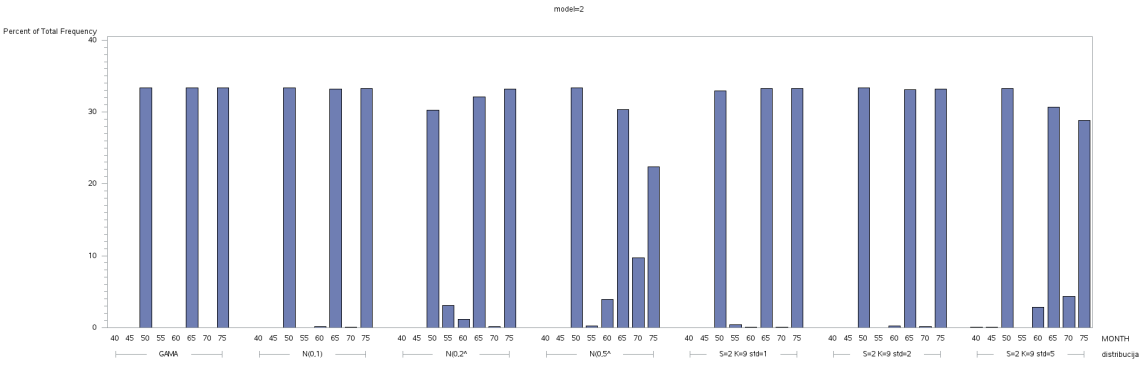
Slika 4.16: Uzorci veličine 8 generirani po modelu 1



Slika 4.17: Uzorci veličine 8 generirani po modelu 2



Slika 4.18: Uzorci veličine 10 generirani po modelu 1



Slika 4.19: Uzorci veličine 10 generirani po modelu 2



Slika 4.20: Rezultati dobiveni generiranjem modela 3, prvi dio

MONTH

TIME	Frequency	Percent	Cumulative Frequency	Cumulative Percent
84	1500	100.00	1500	100.00

The FREQ Procedure
NENORMALNA sigma=1

MONTH

TIME	Frequency	Percent	Cumulative Frequency	Cumulative Percent
84	600	100.00	600	100.00

The FREQ Procedure
NENORMALNA sigma=2

MONTH

TIME	Frequency	Percent	Cumulative Frequency	Cumulative Percent
84	600	100.00	600	100.00

The FREQ Procedure
NENORMALNA sigma=5

MONTH

TIME	Frequency	Percent	Cumulative Frequency	Cumulative Percent
79	1	0.17	1	0.17
80	1	0.17	2	0.33
84	598	99.67	600	100.00

Veličina uzorka 6

The FREQ Procedure
NORMALNA sigma=1

MONTH

TIME	Frequency	Percent	Cumulative Frequency	Cumulative Percent
84	1500	100.00	1500	100.00

The FREQ Procedure
NORMALNA sigma=2

MONTH

TIME	Frequency	Percent	Cumulative Frequency	Cumulative Percent
84	1500	100.00	1500	100.00

The FREQ Procedure
NORMALNA sigma=5

MONTH

TIME	Frequency	Percent	Cumulative Frequency	Cumulative Percent
72	1	0.07	1	0.07
75	1	0.07	2	0.13
79	2	0.13	4	0.27
82	1	0.07	5	0.33
84	1495	99.67	1500	100.00

Slika 4.21: Rezultati dobiveni generiranjem modela 3, drugi dio

Veličina uzorka 5

The FREQ Procedure

NORMALNA sigma=1

MONTH				
TIME	Frequency	Percent	Cumulative Frequency	Cumulative Percent
84	1500	100.00	1500	100.00

The FREQ Procedure

NORMALNA sigma=2

MONTH				
TIME	Frequency	Percent	Cumulative Frequency	Cumulative Percent
84	1500	100.00	1500	100.00

The FREQ Procedure

NORMALNA sigma=5

MONTH				
TIME	Frequency	Percent	Cumulative Frequency	Cumulative Percent
54	1	0.07	1	0.07
77	1	0.07	2	0.13
79	1	0.07	3	0.20
81	1	0.07	4	0.27
84	1496	99.73	1500	100.00

The FREQ Procedure

GAMA

MONTH				
TIME	Frequency	Percent	Cumulative Frequency	Cumulative Percent
84	1500	100.00	1500	100.00

The FREQ Procedure

NENORMALNA sigma=1

MONTH				
TIME	Frequency	Percent	Cumulative Frequency	Cumulative Percent
84	1500	100.00	1500	100.00

The FREQ Procedure

NENORMALNA sigma=2

MONTH				
TIME	Frequency	Percent	Cumulative Frequency	Cumulative Percent
84	1500	100.00	1500	100.00

The FREQ Procedure

NENORMALNA sigma=5

MONTH				
TIME	Frequency	Percent	Cumulative Frequency	Cumulative Percent
84	1500	100.00	1500	100.00

Slika 4.22: Rezultati dobiveni generiranjem modela 3, treći dio



Slika 4.23: Rezultati dobiveni generiranjem modela 3, četvrti dio

Bibliografija

[1] Sanford Bolton i Charles Bon, *Pharmaceutical Statistics, Practical and Clinical Applications Fourth Edition*, 2004.

[2] S.C. Chow, *Statistical Design and Analysis of Stability Studies*, Chapman and Hall, 2007.

[3] Felsovalyi A. Sivo S.A. Keenan S.C Fan, X., *SAS for Monte Carlo Studies: A Guide for Quantitative Researchers*, 2002.

[4] Darrell Hulisz, *Pharmacy and Medications*, 2013, http://www.netwellness.org/healthtopics/pharmacy/medshelflife.cfm.

[5] Miljenko Huzak, *Vjerojatnost i matematička statistika*, 2006, http://aktuari.math.pmf.unizg.hr/docs/vms.pdf.

[6] Tsae Yun D. Lin Karl K. Lin i Rosswith E. Kelly, *Statistics in the pharmaceutical industry*, sv. 140, str. 419 – 444, CRC Press, 1993.

[7] Narodne novine, *Zakon o lijekovima*, 2013, http://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2013_06_76_1522.html.

[8] U.S. Department of Health i Human Services, *Guidance for Industry Stability Testing of Drug Substances and Drug Products*, 1998, https://www.fda.gov/ohrms/dockets/98fr/980362gd.pdf.

[9] Wikipedia, *Monte Carlo simulacija*, https://bs.wikipedia.org/wiki/Monte_Carlo_simulacija.

Sažetak

U ovom diplomskom radu opisana je metoda statističke analize stabilnosti farmaceutskih proizvoda, te su proučene matematičke metode linearne regresije, analize varijance i analize kovarijance. Također proučena je i metoda dugoročne analize stabilnosti s fiksnim efektima, a ukratko je obrađena metoda dugoročne analize stabilnosti sa slučajnim efektima. Proveden je Monte Carlo eksperiment u kojem je ispitana robusnost statističke analize stabilnosti s fiksnim efektima s obzirom na odstupanje slučajne pogreške od tražene distribucije variranjem standardne devijacije, te koeficijenata asimetrije i spljoštenosti. Eksperiment je pokazao da metoda nije robusna s obzirom na testirane parametre i da je osjetljiva na uzorke malih veličina. Na kraju je na rezultatima eksperimenta napravljena analiza distribucija roka trajanja s obzirom na parametre varirane u eksperimentu.

Summary

In this thesis method of statistical stability analysis of pharmaceutical products was studied. Mathematical methods of linear regression, variance and covariance analysis were discussed. Long term stability testing was studied with emphasis on stability testing with fixed effects and a brief overview of stability testing with random effects. Subsequently a Monte Carlo experiment was conducted, its aim was to test how robust statistical stability analysis with fixed effect is in regard of distribution of random error by variating standard deviation, coefficients of skewness and kurtosis. Experiment showed that described method is not robust and that method is quite sensitive to small sample sizes. At the end, the distribution of shelf-life was examined.

Dodatak A

SAS kod

Dan je SAS kod za generiranje podataka. Ovo je samo jedan primjer programa. Pomoću njega se generira slučajna pogreška po normalnoj distribuciji sa standardnim devijacijama 1,2 i 5 po modelu I. Za generiranje po ostalim distribucijama dovoljno je promijeniti određene parametre. U programu se koriste malo modificirani SAS macro programi ANALYSIS1.sas - ANALYSIS6.sas izdani od FDA [2].

```
/*MACRO VARIJBLE*/
%LET NREP=500;  /*broj replikacija*/
%let gopt=hby=0; /* suppresses the by line */
%LET SIGMA=1 2 5; /*standardna devijacija*/
%LET MU=0;
%LET N=5; /*velicina uzorka*/


/*VARIJABLE ZA ANALYS1-6.sas*/
%MACRO DEFAULT;
%GLOBAL NLINES SSDNAME MTEST ALPHA LL UL
        BOUND PRTSEL NUM UNIT TT1 TT2 TT3 TT4
          TT5 TT6 NBATCH TIME INTERCEPT;
%LET SSDNAME=PODACI_ANALYS;
%LET ALPHA=0.05;
%LET UL=110;
%LET LL=90;
%LET BOUND=L;
%LET MTEST=1;
```

```
%LET UNIT=MONTH;
%LET TT1=Stability Analysiy;
%LET TT2= ;
%LET TT3= ;
%LET TT4= ;
%LET TT5= ;
%LET TT6= ;
%MEND DEFAULT;
%DEFAULT;

/*CISCENJE DATA SETOVA IZ WORK*/
proc datasets library=work;
 delete tall tall2 tall3 pom exp_date_i_&N ;
run; quit;

/*CISCENJE DATA SETOVA IZ LIB*/
proc datasets library=lib;
 delete PODACI_ANALYS svi_diplomski_i_&N
 odabir_i_&N &ssdname;
run; quit;

%macro nsize;
%let brojac=0;
%let kk=1;
%let s=%scan(&SIGMA,&kk);
%do %while (&s NE);
%DO REP = 1 %TO &nrep;
%DO u=1 %to &N;
%let k=1;
%let mjesec=%scan(&month,&k);
%DO %WHILE(&mjesec NE);

DATA RAW;
format BATCH $char3.;
          N=&N;
          TIME=&mjesec;
          s=&s;
          replikacije=&REP;
          u=&u;
          beta0=100; beta1=-0.17;
```

```
        DO J=1 to 3;
                BATCH=J;
        eps=RAND('NORMAL',0,&s);
        /* Za generiranje standard.game:
           eps=RAND ("GAMMA",&shape);
           eps=(eps-&mu)/&stdev;
           Za generiranje nenormalne Fleishmanom:
           set fleishman;
           eps=RANNOR(0);
           eps=a + b*eps + c*eps**2 + d*eps**3;*/
        level=beta0+beta1 * &mjesec +eps;
output;

IF J=1 THEN do;  beta0= 100; beta1=-0.17; end ;
IF J=2 THEN do;  beta0=100; beta1=-0.17; end ;
IF J=3 THEN do;  beta0=100; beta1=-0.17; end ;

END;
drop j;
RUN;

proc append base=tall data=raw;run;

%let k=%eval(&k+1);
%let mjesec=%scan(&month,&k);

%END;

proc append base=tall2 data=tall;
run;
proc datasets library=work;
delete tall;
run;quit;
%END;
/*SPREMIMO u SSDNAME KAKO BI MOGLI KORISTITI ANALYS PROGRAME*/
data lib.&SSDNAME;
set tall2;
keep BATCH TIME level;
run;
proc sort data=lib.&ssdname;
```

```
by batch time;
run;

%INCLUDE "&path/ANALYS1.SAS";
%INCLUDE "&path/ANALYS2.SAS";
%INCLUDE "&path/ANALYS3.SAS";
%INCLUDE "&path/ANALYS4.SAS";
%INCLUDE "&path/ANALYS5.SAS";
%INCLUDE "&path/ANALYS6.SAS";

/*ODABIR MODELA: ovaj odabir procitamo iz programa ANALYS3.sas*/
data pom;
set MODEL;
format model $char9.;
sigma=&s; N=&N;
drop mod;
IF mod='MODEL1' THEN DO; model='MODEL1'; END;
ELSE IF mod='MODEL2' THEN DO; model='MODEL2'; END;
ELSE IF mod='MODEL3' THEN DO; model='MODEL3';  END;
ELSE DO; model='error';END;

run;

proc append base=lib.odabir_i_&N data=pom;run;
proc datasets library=work;
delete pom;
run;quit;

/*ODREdjIVANJE ROKA TRAJANJA (u mjesecima)*/
data exp_date_pom;
set summary;
by batch;
%let brojac=%eval(&brojac+1);
sigma=&s; replikacija=&REP; counter=&brojac;
IF last.BATCH;
keep counter BATCH TIME replikacija sigma;
run;

proc append base=exp_date_i_&N data=exp_date_pom;
run;
```

```
%END;


proc append base=lib.svi_diplomski_i_&N data=lib.&ssdname;
run;
proc datasets library=work;
delete tall2 pom;
run;quit;

%let kk=%eval(&kk+1);
%let s=%scan(&SIGMA,&kk);
%END;

/*POSTOCI ODABIRA MODELA*/
proc sort data=lib.odabir_i_&N;
by  sigma;
run;
proc freq data=lib.odabir_i_&N;
tables model;
by sigma;
run;

%mend nsize;

/*VRIJEME U MJESECiMA: n=0 3 6 12 24 36*/

%LET month=0 3 6 12 24 36;

/**********Velicina uzorka: 6***************/
title "VELICINA UZORKA 6";
%let N=%eval(6);
%nsize;

/*****************POSTOCI******************/
proc freq data=lib.odabir_i_6;
tables model;
by sigma;
run;
```

Životopis

Mia Franić je rođena 19.02.1992. u Zagrebu. Pohađala je Osnovnu školu Zapruđe u Novom Zagrebu, nakon koje je u periodu od 2006. do 2010. godine pohađala XV. gimnaziju također u Zagrebu. U rujnu 2010. godine upisala je Prirodoslovno-matematički fakultet u Zagrebu, smjer Matematike te je 2015. godine stekla titulu sveučilišnog prvostupnika matematike. Iste godine upisala je Diplomski sveučilišni studij matematičke statistike.