

Statistical Analysis of Bioequivalence Study in 2×3 Cross-over Design

Nam-Kyoo Lim¹⁾

Abstract

The 2×3 cross-over design is proposed for the bioequivalence of two test drug formulations with a reference drug formulation. Oh et al.(1999) and Park et al.(1998) derived 3×2 cross-over design and discussed its benefits, since the 3×3 cross-over design may not be of practical design. We discuss the statistical issues for 2×3 cross-over design and show its statistical properties. Bioequivalence problem in 2×3 cross-over design is considered statistically and an illustrated example is given.

Keywords : cross-over design, bioequivalence, bioavailability, Ondansetron

1. 서론

최근에는 제제형식이 다른 약품이 인기를 끌게 되면서 생물학적 동등성(bioequivalence)에 대한 연구가 관심을 끌게되었다. 그 이유는 개발된 제제가 기존의 제제와 생체이용률(bioavailability)에 있어서 동등하다는 근거를 제공할 수 있다면 일반적으로 신약에 요구되는 여러 가지 제출물들이 요구되어지지 않고 또한 새로운 약품의 제제형식(formulation)이 개발되었을 때 기존 제제와 생물학적 동등성을 평가하는 시험만을 요구하기 때문이다. 따라서 생물학적 동등성 연구는 신약을 개발하는데 소비되는 비용을 줄이고 시간을 단축시킨다는 점에서 중요하게 인식되고 있다. 최근에 동일한 유효성분을 가지면서 용량만이 다른 제제의 개발이 증가함에 따라서 세 가지 이상의 제제에 대한 생물학적 동등성 시험의 필요성이 대두되면서 온단세트론 8mg과 4mg제제에 대하여 3×3 교차설계법 모델에 따른 생물학적 동등성 시험이 수행되었다. 이영주 등(1998)에서 언급되었듯이 3×3 교차설계법을 잘만 활용하면 서로 용량이 다른 여러 제제를 개발하는데 있어서 개발에 드는 비용을 획기적으로 줄이는 것이 가능하다는 장점이 있다. 이런 장점 때문에 중앙약심에서는 한 회사에서 개발된 제품으로서 동일한 유효성분을 함유하고 제제형식이 다른 두 가지 시험약에 대하여 동시에 시험을 행할 경우에 한하여 3×3 교차설계법에 의한 생물학적 동등성 시험을 인정하기로 하였다. 그러나 3×3 교차설계법은 세 시기에 걸쳐서 시험을 수행해야 되므로 시간이 많이 걸리고 시험기간 중에 탈락되는 피험자가 발생할 가능성이 커지며 세 군에 대해 시험을 수행하므로 많은 대상자의 수가 필요한 단점이 있을 수 있다. 이에 오현숙 등(1999)은 두 개의 제제형식과

1) Lecturer, Department of Applied Statistics, Chung-Ang University, Seoul, 156-756, Korea
E-mail : ala88@netsgo.com

기존제제간의 생물학적 동등성검증에 3×2 교차설계법을 사용할 것을 제안하였다. 본 연구에서는 이영주 등에 의해서 제시되었던 3×3 교차설계법의 통계적 의미를 고찰하고, 통계적 의미가 상실되지 않는 수준에서 3×3 교차설계법을 향상시킬 수 있는 2×3 교차설계법을 제시하고 이 모형에 대한 통계적 분석을 실시하여, 향후 두 가지 제제형식이 동시에 개발될 때 생물학적 동등성시험의 모형으로서의 가능성을 검토하고자 한다.

2. 3×3 교차설계법

두 새로운 제제와 대조제제의 비교를 위한 <그림 2.1>의 3×3 교차설계법을 고려하기 위하여 아래의 모형 (2.1)을 고려하자.

$$Y_{ijk} = \mu + G_k + S_{ik} + P_j + F_{(j,k)} + C_{(j-1,k)} + e_{ijk} \tag{2.1}$$

여기서 $i = 1, 2, 3, \dots, n_k$, $j = 1, 2, 3$, $k = 1, 2, 3$

Y_{ijk} 를 j 번째 기간과 k 번째 순서에서 i 번째 대상의 생체이용률의 측정치; μ 는 전체평균; G_k 는 k 번째 순서의 고정효과; P_j 는 j 번째 기간의 고정효과; $F_{(j,k)}$ 는 k 번째 순서에서 j 번째 기간에 투여된 제제의 고정효과; $C_{(j-1,k)}$ 는 k 번째 순서에서 $(j-1)$ 번째 기간에 투여된 제제의 잔류효과 단, 첫 번째 기간의 잔류효과는 없다.

여기서, 제제효과와 잔류효과를 다시 정리하면 다음과 같다.

$$F_{(j,k)} = \begin{cases} F_{R_1}, & (j,k) = (1,1), (2,2), (3,3) \\ F_{T_1}, & (j,k) = (2,1), (3,2), (1,3) \\ F_{T_2}, & (j,k) = (3,1), (1,2), (2,3) \end{cases}, \quad C_{(j-1,k)} = \begin{cases} C_{R_1}, & (j,k) = (2,1), (3,2) \\ C_{T_1}, & (j,k) = (2,3), (3,1) \\ C_{T_2}, & (j,k) = (2,2), (3,3) \end{cases}$$

또한 순서효과, 기간효과, 제제효과 그리고 잔류효과들은 고정효과(fixed effect)로 가정하고 다음의 제약식을 만족한다.

$$\sum P_j = \sum \sum F_{(j,k)} = \sum \sum C_{(j-1,k)} = 0$$

또한 S_{ik} 와 e_{ijk} 는 랜덤효과로 각각

$$S_{ik} \sim iid N(0, \sigma_s^2), \quad e_{ijk} \sim iid N(0, \sigma_e^2)$$

이고 $\{S_{ik}\}$ 와 $\{e_{ijk}\}$ 은 독립을 가정한다.

<그림 2.1> 기존제제과 새로운 제제형식의 3×3 교차설계법

순서 \ 기간	1	2	3
1	대조제제	시험제제1	시험제제2
2	시험제제2	대조제제	시험제제1
3	시험제제1	시험제제2	대조제제

모형 (2.1)에서 분산분석표를 고려하기 위해 $\bar{Y}_{...}$ 를 전체평균이라고 하면 총변동(SS_{Total})은 다음과 같이 분해 될 수 있다.

$$\begin{aligned} SS_{Total} &= \sum_k \sum_j \sum_i (Y_{ijk} - \bar{Y}_{...})^2 \\ &= \sum_k \sum_j \sum_i (Y_{ijk} - \bar{Y}_{i,k})^2 - \sum_k \sum_j \sum_i (\bar{Y}_{i,k} - \bar{Y}_{...})^2 \\ &= SS_{Within} + SS_{Between} \end{aligned}$$

여기서, SS_{between} 은 다시 두 제곱합으로 분해 될 수 있는데 하나는 순서효과의 제곱합이고 나머지는 오차항이다. 즉,

$$SS_{\text{Between}} = SS_{\text{Sequence}} + SS_{\text{Inter}} = \sum_k \sum_j \sum_i (\bar{Y}_{..k} - \bar{Y}_{...})^2 + \sum_k \sum_j \sum_i (\bar{Y}_{i.k} - \bar{Y}_{..k})^2$$

SS_{Within} 은 제제효과의 제곱합(SS_{Drug}), 기간효과의 제곱합(SS_{Period}), 잔류효과의 제곱합(SS_{Carry}) 그리고 오차의 제곱합(SS_{Intra})으로 분해된다. 즉,

$$SS_{\text{Within}} = \sum_k \sum_j \sum_i (\bar{Y}_{.j.} - \bar{Y}_{...})^2 + \sum_k \sum_j \sum_i (\hat{\mu}_{jk} - \bar{Y}_{...})^2 + \sum_k \sum_j \sum_i (\bar{C}_{jk} - \bar{Y}_{...})^2 + \sum_k \sum_j \sum_i R_{ijk}^2 \tag{2.2}$$

여기에서

$$\hat{\mu}_{jk} = \begin{cases} \hat{\mu}_R = (\bar{Y}_{.11} + \bar{Y}_{.22} + \bar{Y}_{.33})/3, (j, k) = (1, 1), (2, 2), (3, 3) \\ \hat{\mu}_{T_1} = (\bar{Y}_{.21} + \bar{Y}_{.32} + \bar{Y}_{.13})/3, (j, k) = (2, 1), (3, 2), (1, 3) \\ \hat{\mu}_{T_2} = (\bar{Y}_{.31} + \bar{Y}_{.12} + \bar{Y}_{.23})/3, (j, k) = (3, 1), (1, 2), (2, 3) \end{cases}$$

$$\bar{C}_{jk} = \begin{cases} \bar{C}_R = (\bar{Y}_{.31} + \bar{Y}_{.22} + \bar{Y}_{.13})/3, (j, k) = (3, 1), (2, 2), (1, 3) \\ \bar{C}_{T_1} = (\bar{Y}_{.21} + \bar{Y}_{.12} + \bar{Y}_{.33})/3, (j, k) = (2, 1), (1, 2), (3, 3) \\ \bar{C}_{T_2} = (\bar{Y}_{.11} + \bar{Y}_{.32} + \bar{Y}_{.23})/3, (j, k) = (1, 1), (3, 2), (2, 3) \end{cases}$$

이고

$$R_{ijk} = Y_{ijk} - \bar{Y}_{i.k} - \bar{Y}_{.j.} - \hat{\mu}_{jk} - \bar{Y}_{jk} + \bar{Y}_{...}$$

이다. 각 제곱합들을 그 자유도로 나누어주면 평균제곱합(MS)을 얻을 수 있고 제곱합과 평균제곱합의 기대값을 정리하여 <표 2.2>의 분산분석표를 구할 수 있다.

<표 2.2> 3×3 교차설계법에서 분산분석표(잔류효과를 포함한 모형)

요인	자유도	E(평균제곱합)
대상간 변동		
순서 효과	2	$\sigma_e^2 + 3\sigma_s^2 + n(G_1^2 + G_2^2 + G_3^2) + n/6(C_R^2 + C_{T_1}^2 + C_{T_2}^2) - n(G_1 C_{T_2} + G_2 C_{T_1} + G_3 C_R)$
대상간 잔차	3n-3	$\sigma_e^2 + 3\sigma_s^2$
대상내 변동		
제제 효과	2	$\sigma_e^2 + n/2[(F_R - F_{T_1})^2 + (F_R - F_{T_2})^2 + (F_{T_1} - F_{T_2})^2] + 2n/9[(C_R - C_{T_1})^2 + (C_R - C_{T_2})^2 + (C_{T_1} - C_{T_2})^2] + 2n(F_R C_{T_2} + F_{T_1} C_R + F_{T_2} C_{T_1})$
기간 효과	2	$\sigma_e^2 + n/2[(P_1 - P_2)^2 + (P_1 - P_3)^2 + (P_2 - P_3)^2]$
잔류 효과	2	$\sigma_e^2 + n/18[(C_R - C_{T_1})^2 + (C_R - C_{T_2})^2 + (C_{T_1} - C_{T_2})^2]$
대상내 잔차	2(3n-3)	σ_e^2
수정된 총변동	9n-1	

여기서, $n_i = n, i=1,2,3$ 일 때는 $E(MS_{\text{Intra}}) = \sigma_e^2$ 이 되어 잔류효과와 제제효과를 검정할 수

있지만, $n_i \neq n$ 일 때는 $E(MS_{Intra}) \neq \sigma_e^2$ 가 되어, 분산분석을 시행할 수 없게된다. 따라서 지금부터 논의되는 내용에서는 $n_i = n$ 을 가정하기로 한다. 제시된 분산분석표에서 알 수 있듯이, 만일 잔류효과가 존재하게 되면 분석 상에 많은 어려움을 준다는 것을 알 수 있다. 즉 분석의 초점이 되는 제제효과가 잔류효과에 영향을 받고 있기 때문에 잔류효과가 존재할 때에는 제제효과를 제대로 추론할 수 없다. 따라서 <표 2.2>로 잔류효과에 대한 검정이 먼저 선행되어야한다. 일반적으로 교차설계법에서는 기간과 기간사이에 충분한 세수기간(washout period)을 두어 잔류효과가 나타나는 것을 방지해야한다.

잔류효과가 존재하면 3×3 교차설계법을 고려하는 의미가 없기 때문에 충분한 휴약기간으로 잔류효과가 존재하지 않는다는 가정 하에서 새로운 모형을 고려하면 다음의 모형 (2.3)과 같다.

$$Y_{ijk} = \mu + G_k + S_{ik} + P_j + F_{(j,k)} + e_{ijk} \tag{2.3}$$

여기서 $i = 1, 2, 3, \dots, n, j = 1, 2, 3, k = 1, 2, 3$

이 경우 모형 (2.1)에서와 같은 방법으로 분산분석표를 만들어 보면 <표 2.3>과 같다.

<표 2.3> 3×3 교차설계법에서 분산분석표(잔류효과가 없는 모형)

요인	자유도	E(평균제곱합)
대상간 변동		
순서 효과	2	$\sigma_e^2 + 3\sigma_s^2 + n(G_1^2 + G_2^2 + G_3^2)$
대상간 잔차	$3n - 3$	$\sigma_e^2 + 3\sigma_s^2$
대상내 변동		
제제 효과	2	$\sigma_e^2 + n/2[(F_R - F_{T_1})^2 + (F_R - F_{T_2})^2 + (F_{T_1} - F_{T_2})^2]$
기간 효과	2	$\sigma_e^2 + n/2[(P_1 - P_2)^2 + (P_1 - P_3)^2 + (P_2 - P_3)^2]$
대상내 잔차	$2(3n - 3)$	σ_e^2
총변동	$9n - 1$	

<표 2.3>에서 얻은 분산분석표를 이용하여 제제효과의 검정과 순서효과의 검정이나 기간효과의 검정 등도 수행할 수 있으며 생물학적 동등성시험의 자료로 사용할 수 있다.

3. 2×3 교차설계법

3×3 교차설계의 경우는 세 번의 기간이 있어 시험기간이 길어지고 이에 시험기간 중 결락되는 피험자가 발생할 가능성이 커지는 단점이 있다. 이에 박상규 등(1998)과 오현숙 등(1999)은 이러한 단점을 보완하여 3×2 교차설계법을 제안하였다. 3×2 교차설계법은 모든 쌍의 제제효과의 차이를 동일한 정도로 추정이 가능하고, 즉 모든 제제의 쌍의 분산이 같고, 여러 효과들이 비직교임에도 불구하고 분석이 간단하고, 각 제제효과의 불편추정량을 구할 수 있다는 장점이 있다. 또한 여러 기간에 걸쳐 실험을 함으로 인한 윤리적인 문제를 해소할 수 있는 장점이 있다. 그러나 하나의 순서의 피험자들이 대조제제를 복용하지 않으므로 인해 대상내 비교가 신뢰성이 떨어지는 단점이 있다(Chow and Liu(1994)). 이번 절에서는 이런 3×2 교차설계의 단점을 보완하여 2×3 교차설계를 제안하고자 한다. 2×3 교차설계는 <그림 3.1>과 같이 세 번의 기간과 두 번의 순서를 갖는 교차설계이다.

<그림 3.1> 기존제제과 새로운 제제형식의 2×3 교차설계법

순서 \ 기간	1	2	3
1	대조제제	시험제제2	시험제제1
2	시험제제1	대조제제	시험제제2

2×3교차설계법은 시험기간이 길어지는 단점이 있지만 모든 피험자가 대조제제를 비롯한 모든 제제를 복용함으로써 보다 정도 높은 추정이 가능하게 되고, 실험의 순서를 줄임으로서 피험자의 수를 줄일 수 있는 장점이 있다. 2×3 교차설계법도 역시 잔류효과가 고려된 모형에서는 제제효과의 추론이 어렵기 때문에 실험의 수행 단계에서 충분한 세수기간을 두어 잔류효과가 나타나지 않도록 해야한다. 실제로 생물학적 동등성시험의 대상이 되는 약물의 경우 이미 반감기(half-life time)가 잘 알려져 있으므로 이를 잘 활용하여 충분한 대기시간을 두면 이와 같은 전제조건을 만족시킬 수 있다. 또한 각 순서에 피험자의 수는 같음을 가정한다. 2×3 교차설계법에 대한 통계적 모형은 다음과 같이 고려해 볼 수 있다.

$$Y_{ijk} = \mu + G_k + S_{ik} + P_j + F_{(j,k)} + e_{ijk} \tag{3.1}$$

여기서 $i = 1, 2, 3, \dots, n, j = 1, 2, 3, k = 1, 2$

모형의 각 효과와 가정은 모형 (2.1)과 동일하다. 모형 (3.1)의 통계적 의미와 모수들에 관한 추론을 위해 분산분석표를 고려하면 앞 절에서와 같이 SS_{Within} 과 $SS_{Between}$ 으로 분해 할 수 있고 $SS_{Between}$ 은 다시 앞 절과 마찬가지로 두 제곱합으로 분해 될 수 있는데 순서효과의 제곱합과 오차항으로 분해된다.

$$SS_{Between} = SS_{Sequence} + SS_{Inter} = \sum_j \sum_k (\bar{Y}_{..k} - \bar{Y}_{...})^2 + \sum_k \sum_j (\bar{Y}_{i..k} - \bar{Y}_{..k})^2$$

SS_{Within} 은 <표 3.1>에 제시된 직교대비(orthogonal contrast)와 그 나머지로 분해될 수 있다.

<표 3.1> 각 대비 제곱합과 $\bar{Y}_{i..k}$ 의 계수 c_{jk}

		SS_{D_1}			SS_{D_2}		
		기간			기간		
순서		1	2	3	1	2	3
1		3/2	-3/2	0	-1/2	-1/2	1
2		-3/2	3/2	0	1/2	1/2	-1

		SS_{P_1}			SS_{P_2}		
		기간			기간		
순서		1	2	3	1	2	3
1		1	-1	0	-1	-1	2
2		1	-1	0	-1	-1	2

따라서 시험대상내 잔차는

$$SS_{Intra} = SS_{Within} - (SS_{D_1} + SS_{D_2} + SS_{P_1} + SS_{P_2})$$

로 정의 될 수 있으며, 각 효과의 제곱합을 구하여 분산분석표를 구하여 보면 <표 3.2>와 같다. <표 3.2>에서 알 수 있듯이, 기간의 효과가 제제의 효과와 교락되어 있음을 알 수 있다. 따라서 제제효과가 없을 때 한하여 기간의 효과에 관한 검정을 할 수 있다. 물론 제제효과를 포함하지 않은 새로운 모형을 정의하여 기간의 효과를 검정할 수 있지만 시험의 목적이 제제의 효과를 검정하는 것인 만큼 이러한 시도는 의미가 없을 것이다.

<표 3.2> 2×3 교차설계법에서의 분산분석표

요인	자유도	E(평균제곱합)
대상간 변동		
순서 효과	1	$\sigma_e^2 + 3\sigma_s^2 + 3n(G_1^2 + G_2^2)$
대상간 잔차	2n-2	$\sigma_e^2 + 3\sigma_s^2$
대상내 변동		
기간 효과	2	$\sigma_e^2 + n/3[(P_1 - P_2)^2 + (P_1 - P_3)^2 + (P_2 - P_3)^2]$ $+ n/12[(F_R - F_{T_1})^2 + (F_R - F_{T_2})^2 + (F_{T_1} - F_{T_2})^2]$ $- n[P_1 F_{T_2} + P_2 F_{T_1} + P_3 F_{T_R}]$
제제 효과	2	$\sigma_e^2 + n/4[(F_R - F_{T_1})^2 + (F_R - F_{T_2})^2 + (F_{T_1} - F_{T_2})^2]$
대상내 잔차	4n-4	σ_e^2
총변동	6n-1	

생물학적 동등성의 판정은 식품의약품안전청 고시 제 1998-86호 생물학적 동등성 시험기준에 따라 행할 수 있다. 이 기준은 2×2 교차설계의 경우

- 1) 대조약과 시험약의 비교항목 평균치의 차이는 대조약의 20%이내 이어야 하고,
- 2) 분산분석에 의한 검정은 원칙적으로 유의수준 α 는 5~10%로 하고, 그 때의 정도는 검출력(1- β)은 0.8로 최소검출차 Δ 는 0.2로 함이 바람직하고 의약품의 종류에 따라 최소검출차의 의미를 고찰할 필요가 있으며,
- 3) 두 제제의 생체이용률의 차의 신뢰한계를 구해 2)의 결과와 합쳐 평가한다는 것이다.

위의 기준을 2×3 교차설계법에 적용해보면, 2×3 교차설계법에서 $\mu_R = \mu + F_R$, $\mu_{T_1} = \mu + F_{T_1}$, $\mu_{T_2} = \mu + F_{T_2}$ 이고 $\hat{\mu}_R$, $\hat{\mu}_{T_1}$ 그리고 $\hat{\mu}_{T_2}$ 를 이들의 불편추정량(unbiased estimator)이라 하면 다음과 같이 표본평균을 이용하여 각각 다음과 같이 구할 수 있다.

$$\begin{aligned} \hat{\mu}_R &= 3/6 \bar{Y}_{.11} - 1/6 \bar{Y}_{.21} + 1/6 \bar{Y}_{.31} - 1/6 \bar{Y}_{.12} + 3/6 \bar{Y}_{.22} + 1/6 \bar{Y}_{.32} \\ \hat{\mu}_{T_1} &= -1/6 \bar{Y}_{.11} + 1/6 \bar{Y}_{.21} + 3/6 \bar{Y}_{.31} + 3/6 \bar{Y}_{.12} + 1/6 \bar{Y}_{.22} - 1/6 \bar{Y}_{.32} \\ \hat{\mu}_{T_2} &= 1/6 \bar{Y}_{.11} + 3/6 \bar{Y}_{.21} - 1/6 \bar{Y}_{.31} + 1/6 \bar{Y}_{.12} - 1/6 \bar{Y}_{.22} + 3/6 \bar{Y}_{.32} \end{aligned}$$

이 들 불편추정량을 이용하여 위 기준을 적용하면

① $\frac{|\hat{\mu}_{T_1} - \hat{\mu}_R|}{\hat{\mu}_R} \times 100 \leq 20\%$ 이고 $\frac{|\hat{\mu}_{T_2} - \hat{\mu}_R|}{\hat{\mu}_R} \times 100 \leq 20\%$ 이어야 하고,

② <표 3.2>에서 분산분석 결과 제제효과에 대한 F-검정이 유의수준 5%혹은 10%하에서 유의하

지 않아야 하며, 비심도 $\lambda = \frac{(0.2 \hat{F}_R)^2}{2\hat{\sigma}_e^2} \times n$, (여기서 $\hat{\sigma}_e^2 = MS_{\text{Intra}}$)에서 F-검정력이 80%를 넘

어야 하며,

③ Dunnett의 표를 이용해서 $F_{T_1} - F_R$ 과 $F_{T_2} - F_R$ 의 $(1 - \alpha) \times 100\%$ 동시신뢰구간을 구하여 대조 약에 대한 백분율로 환산하여 (-20, 20)의 동등구간에 포함된다면 고려된 3가지 제제의 생물학적 동등성을 판정할 수 있을 것이다.

4. 통계적 해석 응용의 예

이영주 등 (1998)에 의해서 제시된 온단세트론 제제의 생물학적 동등성 시험의 자료를 이용해서 2×3 교차설계법에 의한 생물학적 동등성 여부를 알아보자. 자료에서 세 번째 순서에 관련된 자료는 없었던 것으로 가정하고 세 가지 제제의 생물학적 동등성을 위에서 논의한 기준에 의해서 판단할 수 있는지를 살펴보기로 하자. 첫 번째 기준을 살펴보기 위하여 각 불편추정량을 구해보면

$$\hat{\mu}_R = 14078.81, \quad \hat{\mu}_{T_1} = 14807.667 \quad \text{그리고} \quad \hat{\mu}_{T_2} = 15481.238$$

이다.

$$\textcircled{1} \frac{|\hat{\mu}_{T_1} - \hat{\mu}_R|}{\hat{\mu}_R} \times 100 \leq 20\% \quad \text{이고} \quad \frac{|\hat{\mu}_{T_2} - \hat{\mu}_R|}{\hat{\mu}_R} \times 100 \leq 20\% \quad \text{에 대하여}$$

$$\frac{|14807.667 - 14078.81|}{14078.81} \times 100 = 5.1769799\% \leq 20\%$$

$$\frac{|15481.238 - 14078.81|}{14078.81} \times 100 = 9.9612724\% \leq 20\%$$

임으로 두 시험약이 모두 (-20,20)동등구간에 속한다.

두 번째 기준을 만족하는가를 알아보기 위하여 다음의 분산분석표를 구할 수 있다.

<표 4.1> 이영주 등(1998)의 자료를 이용한 분산분석표

요인	자유도	Sum of Square	Sum of Mean Square	F-test
대상간 변동		690,247,317.4		
순서 효과	1	1,290,453.4	1,290,453.4	0.0224766
대상 간 잔차	12	688,956,864	57,413,072	
대상 내 변동		93,375,549		
기간 효과	2	20,764,459	10,382,229.5	4.0008585
제제 효과	2	10,331,080	10,382,229.5	1.9905738
대상 내 잔차	24	62,280,010		
총 변동	41	783,622,866.4		

위 분산분석표에서 제제효과를 살펴보면 유의수준 10% ($F(2,24,0.1)=2.5383319$)에서 유의하지 않음을 알 수 있고, 자유도 2와 24에서 비심도 $\lambda=10.693564$ 의 F-검정력은 0.8781333으로 80%가 넘는 것으로 나타났다. 세 번째 기준을 알아보기 위하여 $\mu_{T_1}-\mu_R$ 과 $\mu_{T_2}-\mu_R$ 의 90% Dunnett의 동시신뢰구간을 계산해 보면 아래와 같다.

$$|\hat{\mu}_{T_1}-\hat{\mu}_R|\pm d(\alpha,2,24)\times\sqrt{\frac{4MS_{Intra}}{3n}}$$

$$=(-684.2826, 2141.9969)$$

$$|\hat{\mu}_{T_2}-\hat{\mu}_R|\pm d(\alpha,2,24)\times\sqrt{\frac{4MS_{Intra}}{3n}}$$

$$=(-10.71121, 2815.5683)$$

이를 대조약에 대한 백분율로 환산하면, 각각 (-4.860, 15.214) 그리고 (-0.076, 19.999)이 되어 동등구간 (-20,20)에 포함된다. 따라서 두 실험제제와 참조제제간에 생물학적 동등성이 인정된다.

이상의 식품의약품안전청 고시에 따른 기준 모두가 각 시험제제의 생물학적 동등성 기준을 만족하는 것으로 나타나 AUC(area under concentration)측면에서 2×3 교차설계법에 따라 통계적으로 분석할 때 두 온단세트론 시험약은 대조약과 생물학적으로 동등함을 확인할 수 있으며, 이영주 등(1998)이 제시한 3×3 교차설계법의 시험과 같은 결과를 얻을 수 있었다.

<표 5.1> 모의실험을 통한 3×3, 3×2, 2×3 교차설계법의 검정력

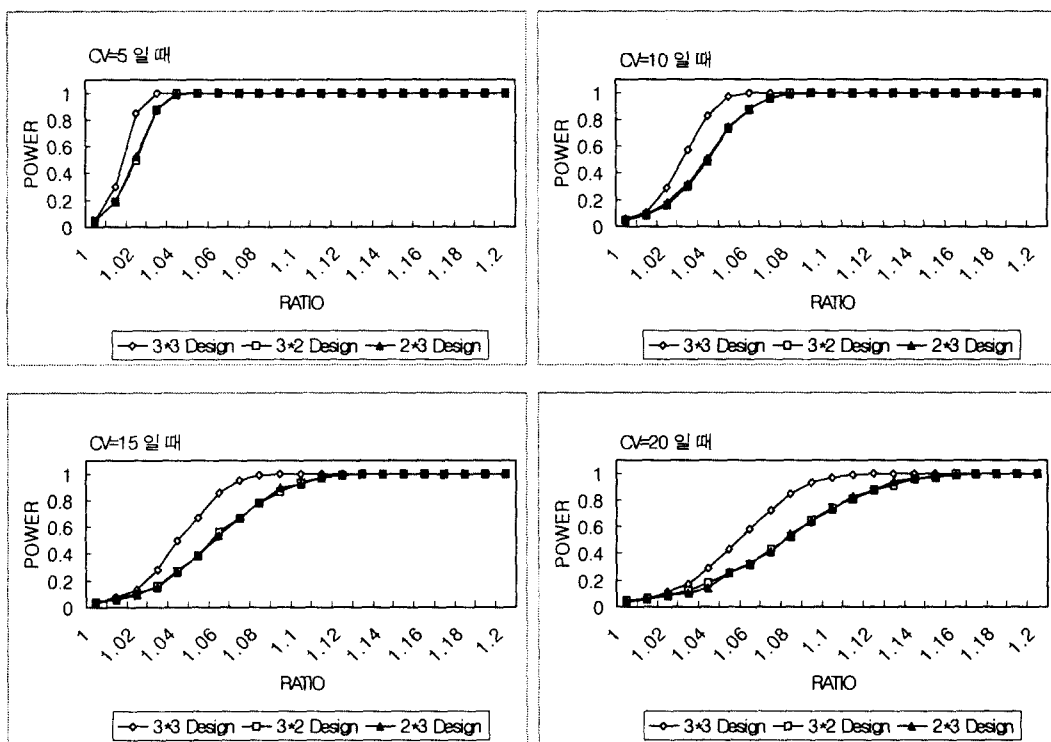
CV	5			10			15			20		
ratio	3×3	3×2	2×3	3×3	3×2	2×3	3×3	3×2	2×3	3×3	3×2	2×3
1.00	0.046	0.046	0.043	0.058	0.048	0.057	0.044	0.045	0.048	0.043	0.048	0.044
1.02	0.842	0.495	0.528	0.291	0.158	0.177	0.135	0.094	0.101	0.111	0.083	0.089
1.04	1.000	0.997	0.985	0.828	0.485	0.507	0.497	0.272	0.267	0.294	0.180	0.144
1.06	1.000	1.000	1.000	0.994	0.875	0.878	0.858	0.563	0.536	0.582	0.317	0.325
1.08	1.000	1.000	1.000	1.000	0.995	0.990	0.989	0.785	0.780	0.842	0.526	0.548
1.10	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.999	0.934	0.923	0.969	0.743	0.731
1.12	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.985	0.993	0.996	0.873	0.875
1.14	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.999	0.997	1.000	0.956	0.961
1.16	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.999	1.000	1.000	0.992	0.990
1.18	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.999	0.999
1.20	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

5. 모의실험

본 모의실험에서는 앞에서 논의한 세 가지 제제의 통계적 동일성 검정을 위한 3×3 교차설계법과 3×2 교차설계법 그리고 본 논문에서 제안하고 있는 2×3 교차설계법의 모의실험을 통한 검정력을 비교함으로써 향후 생물학적 동등성 시험에 모형으로서 가능성을 시험해 보고자한다. 본 모의실험에서 피험자의 수를 각 순서에 동일하게 12명씩 배정하였다($n=n_1=n_2=n_3$). 전체평균 $\mu=100$ 으로 하였으며 대조제제의 효과 $F_R=0$ 으로 하였고 제제의 고정효과에 대한 제약조건 $F_R+F_{T_1}+F_{T_2}=0$ 을 만족하도록 F_{T_1} 과 F_{T_2} 를 변화해가며 1,000번의 반복실험을 통하여 기각

되는 비율을 구하여 검정력을 계산하였다. 즉, 평균생체이용률의 비(ratio) 즉, μ_{T_1}/μ_R 또는 μ_{T_2}/μ_R 를 1~1.2 로 변화하였고 변동계수(CV)를 5에서 20까지 5씩 변화해가며 반복실험을 하였다. 단, 여기에서 $CV=(\sigma_e/\mu_R)\times 100$ 이다. <표 5.1>과 <그림 5.1>의 모의실험결과에서 볼 수 있듯이 3×3 교차설계법이 3×2 교차설계법이나 2×3 교차설계법 보다 검정력이 높게 나온 것을 알 수 있고 이는 3×3 교차설계법이 실험에 횟수가 다른 교차설계법 보다 많음으로 인하여 발생하는 결과라고 볼 수 있다. 그리고 3×2 교차설계법과 2×3 교차설계법은 검정력이 서로 비슷하게 나오는 것을 알 수 있다.

<그림 5.1> 모의실험을 통한 3×3, 3×2, 2×3 교차설계법의 검정력



6. 결론

생물학적 동등성 시험은 신약을 개발하는데 소요되는 비용을 줄이고 시간을 단축시킨다는 점에서 큰 의미를 지닌다. 지금까지 생물학적 동등성 시험은 시험제제와 대조제제가 각각 하나인 경우 2×2 교차설계법을 중심으로 이루어져 왔으나 최근 이영주 등(1998)에 의해서 대조제제와 동일한 유효성분을 가지면서 용량이 다른 두 가지 제제들의 생물학적 동등성 시험에 3×3 교차설계법이 사용되었다. 이 설계법은 기존의 2×2 교차설계법을 두 번 실시하는데 들이는 비용과 시간을 줄일 수 있는 장점이 있다. 박상규 등(1998)과 오현숙 등(1999)은 이런 3×3 교차설계의 단점을 보완하여 3×2 교차설계법을 제안하였다. 이 설계법은 기간을 줄임으로서 피험자가 실험도중에 탈락되는

것을 방지하고, 즉 결측치가 발생할 가능성을 줄이고 피험자에 대한 윤리적 문제를 보완하였다. 그러나 교차설계의 특징은 피험자 모두가 대조제제와 시험제제를 복용하여 스스로가 대조역할을 하는데 있다. 그러나 두 시험제제와 대조제제를 비교하는 실험에서 3×2 교차설계를 이용하는 경우 하나의 순서에 피험자들이 대조제제를 복용하지 않음으로 인하여 대상내 비교의 신뢰도가 떨어지게 될 수 있다. 이에 2×3 교차설계법은 두 번의 순서에 피험자 모두가 시험되는 제제를 모두 복용함으로써 피험자 스스로가 대조의 역할을 하게 되고 3×3 교차설계에 비해 보다 적은 수의 피험자만을 필요로 하게 되는 장점이 있다.

참고문헌

- [1] 박상규, 김정일, 채성산, 고승곤, 오현숙, 양완연, 김동섭, 최영욱(1998), 3×2 교차설계법에서 생물학적 동등성 시험의 통계분석, <약제학회지>, 제 28권 4호, 231-239.
- [2] 식품의약품안전청 고시 제1996-86호(1998), 생물학적 동등성 시험 기준, 식품의약품안전청.
- [3] 오현숙, 고승곤, 김정일, 박상규(1999), 두 개의 제제형식과 기존제제간의 생물학적 동등성 검증, <응용통계연구>, 제12권 1호, 241-251.
- [4] 이영주, 이명걸, 정석재, 이민화, 심창구(1998), 3×3 라틴방격법 모델에 따른 생물학적 동등성 시험의 통계해석 : 온단세트론 제제의 실험 예, <약제학회지>, 제28권 1호, 35-42.
- [5] Chow, S. C. and Liu, J. P. (1994). *Design and Analysis of Bioavailability and Bioequivalence Studies*, Marcel Dekker, Inc., New York.