

## 3×2 교차설계법에서 생물학적 동등성 시험의 통계분석

박상규<sup>1†</sup> · 김정일<sup>2</sup> · 채성산<sup>2</sup> · 고승곤<sup>3</sup> · 오현숙<sup>3</sup> · 양완연<sup>3</sup> · 김동섭<sup>4</sup> · 최영욱<sup>5</sup>

<sup>1</sup>중앙대학교 응용통계학과, <sup>2</sup>대전대학교 통계학과,  
<sup>3</sup>경원대학교 응용통계학과, <sup>4</sup>국립독성연구소 약효약리과, <sup>5</sup>중앙대학교 약학대학  
(1998년 10월 1일 접수)

### Statistical Analysis of Bioequivalence Study in 3×2 Crossover Design

Sang-Gue Park<sup>1†</sup>, Jeong-II Kim<sup>2</sup>, Sung San Chae<sup>2</sup>, Seung-Gon Ko<sup>3</sup>,  
Hyun-Sook Oh<sup>3</sup>, Wan-Youn Yang<sup>3</sup>, Dong Sup Kim<sup>4</sup> and Young Wook Choi<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Department of Applied Statistics, Chung-Ang University, Seoul 156-756, Korea

<sup>2</sup>Department of Statistics, Taejon University, Taejon 300-716, Korea

<sup>3</sup>Department of Applied Statistics, Kyungwon University, Sungnam 461-701, Korea

<sup>4</sup>Dept. of Clinical Pharmacology, National Institute of Toxicology Center, Seoul 122-704, Korea

<sup>5</sup>College of Pharmacy, Chung-Ang University, Seoul 156-756, Korea

(Received October 1, 1998)

A 3×2 crossover design is considered for the bioequivalence of two test formulations with a control. It could be considered as a better choice over 3×3 crossover design because of the cost and experimental duration. Oh et al.(1998) derived 3×2 crossover design and discussed its benefits over the typical crossover designs. We consider here the statistical models for 3×2 crossover design and show its statistical properties. The statistical procedures for the bioequivalence in 3×2 crossover design are shown through an example and the results are summarized by satisfying the 3 standards that proposed by the Korea Food and Drug Administration Guidelines for Bioequivalence.

**Keywords**—Bioequivalence, Crossover design, Balanced incomplete block design, Ondansetron

최근 제약업계에서 다양한 제제에 대한 생물학적 동등성 시험이 수행되면서 실제 실험에서 나타나는 여러 가지 문제에 대한 통계적 해석에 많은 관심을 가지게 되었다. 우리나라의 경우도 1989년 1월 1일 이후에 신약으로 허가된 전문의약품과 동일한 품목의 경우 및 패취제제 등 제형의 특수성이 인정되는 제제의 경우 품목허가를 받기 위해서는 반드시 생물학적 동등성 시험자료를 제출하여 안전성, 유효성 관련사항을 심사하도록 하고 있다.<sup>1)</sup>

생물학적 동등성 시험은 대조약과 시험약을 비교하는데 평행설계(Parallel design)를 이용하는 방법과 교차설계(Crossover design)를 이용하는 방법 크게 두가지 방법으로 구분해 볼 수 있다. 평행설계는 대조약과 시험약을 두 군의 피실험자들에게 투여해서 생체

이용률을 비교하는 방법이고, 교차설계는 대조약과 시험약 각 1종씩을 피실험자에게 교차 반복투여하여 생체이용률을 비교하는 방법이다. 두 가지 설계를 이용하여 생물학적 동등성 시험을 수행하는데 있어 각각의 장단점이 있기 때문에 두가지 방법 모두 이용되고 있다.<sup>2,3)</sup> 임상실험에서 교차설계법은 실험이 끝날 때까지 환자의 상태를 지켜볼 수 있는 만성적인(chronic) 질병에 걸린 환자들이나 투여된 제제의 효과를 빨리 측정할 수 있는 질병의 환자들에게 적합하다.<sup>4)</sup>

최근 동일한 유효성분을 가지면서 용량만이 다른 제제의 개발이 증가함에 따라서 3가지 이상의 제제에 대한 생물학적 동등성 시험의 필요성이 대두되면서 온단세트론 8 mg과 4 mg제제에 대하여 3×3 라틴방격법 모델에 따른 생물학적 동등성 시험이 수행되었다.<sup>5)</sup> 이영주 등<sup>5)</sup>에 의해서 언급되었듯이 3×3 교차설계법을 잘 활용하면 서로 용량이 다른 여러 제제를 개발하는

<sup>†</sup>본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

데 있어서 개발비용을 획기적으로 줄일 수 있다는 장점이 있다. 이런 장점 때문에 중앙약심에서는 한 회사에서 개발된 제품으로서 동일한 유효성분을 함유하면서 용량이 다른 2가지 시험약에 대하여 동시에 시험을 행할 경우에 한하여 3×3 교차설계법에 의한 생물학적 동등성 시험을 인정하기로 하였다.

3×3 모델은 완전교차시험에 의해 시기별 및 군별 오차를 최소화할 수 있는 장점이 있으나, 3시기에 걸쳐 시험을 수행해야 하므로 시간이 많이 걸리고 시험기간 중 탈락되는 피험자가 발생할 가능성이 커지는 단점이 있을 수 있다. 오현숙 등<sup>6)</sup>은 이영주 등이 제안한 3×3 교차설계법을 확장하여 3×2 교차설계법을 유도하였다. 본 연구에서는 이영주 등<sup>6)</sup>에 의해서 제시되었던 3×3 교차설계법과 오현숙 등<sup>6)</sup>에 의해서 제시된 3×2 교차설계법의 통계적 의미를 고찰하고 이 모형에 대한 통계적 분석을 실시하여, 향후 2가지 시험약이 동시에 개발될 때 생물학적 동등성시험의 표준모델로서의 가능성을 검토하고자 하였다.

### 3×3 교차설계법

교차설계법의 가장 큰 특징은 실험에 참여한 개체들 스스로가 대조역할을 한다는 것이다. 교차설계법이 실험적인 측면에서 많은 장점이 있지만 실험 후 분석이 어렵게 되는 경우가 있는데, 그것은 실제 투여된 제제의 효과에 영향을 주는 요인들이 여러 가지 있기 때문이다. 제제들의 효과는 실제 투여된 기간에서 관측될 수 있는 제제효과(drug effect)와 다음 기간까지 남아 있는 잔류효과(carryover effect)가 있다. 잔류효과의 크기가 통계적으로 유의할 때는 제제의 효과에 관한 추론에 많은 어려움이 있다는 것은 매우 잘 알려진 사실이다. 따라서 실험을 수행할 당시에 이런 점에 충분히 유의하면서 제제의 투여시기에 충분한 간격(휴약 기간, washout period)을 두어야 차후 분석에서 제제 효과를 정확하게 추론하는데 문제가 없다. 만약 첫번째 기간에서 투여된 제제의 효과가 두번째 기간으로 이월된다면 교차설계법에서 제제의 효과를 파악하기는 어렵기 때문에 힘들게 관측한 환자의 일부를 포기해야만 하는 경우도 있다.

교차설계법에는 이런 제제 효과외에도 어떤 순서(sequence effect)로 제제를 투여하는가에 따라 혹은 어떤 기간(period effect)에 어떤 제제를 투여하는가에 따라 반응치가 달라질 수 있으며 우리가 원하는 제제효

과의 추론에 영향을 미칠 수 있다. 이런 효과들의 관계를 보다 정확하게 이해하기 위해서 교차설계법에서 논의되고 있는 가장 기본적인 통계적 모형을 고려해보자.

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

여기서

- $Y_{ijk}$  : k-번째 순서에서 j-번째 기간에 i-번째 실험단위의 반응값,
- $\mu$  : 전체평균,
- $G_k$  : k-번째 순서 효과,
- $S_{ik}$  : k-번째 순서에서 i-번째 실험단위에서 발생하는 오차변수(iid  $N(0, \sigma_s^2)$ ),
- $P_j$  : j-번째 기간 효과,
- $F_{(j,k)}$  : k-번째 순서에서 j-번째 기간에 투여된 제제의 직접효과,
- $C_{(j-1,k)}$  : k-번째 순서에서 (j-1)기간에 투입된 제제의 잔류효과,
- $\epsilon_{ijk}$  : k-번째 순서에서 j-번째 기간에 i-번째 실험단위에서 발생하는 오차변수 (iid  $N(0, \sigma_e^2)$ )이며  $S_{ik}$ 와는 서로 독립이다.

위 모형 (1)에서 기간, 제제, 그리고 기간이 경과함에 따라 나타나는 각 제제의 잔류효과는 특정 랜덤 메카니즘에 의해 임의로 선택되는 것이 아니므로 고정 효과를 가정함이 타당하고, 따라서, 이들 효과는 다음과 같은 제약식을 만족한다.

$$\sum_j P_j = 0, \sum_{j,k} F_{(j,k)} = 0, \sum_{j,k} C_{(j-1,k)} = 0 \quad (2)$$

교차설계법에서 각 순서에 할당되는 표본의 크기는 비교하고자 하는 제제의 개수가 2개인 경우에는 분석에 그리 큰 문제가 되지 않으나, 3개 이상인 경우에는 분석적으로 여러 가지 문제점을 가지고 있으므로 본 논문에서는 각 순서에 할당되는 표본의 크기가 모두 동일하다고 가정하기로 한다. 또한 모형 (1)의 통계적 특성을 정확하게 이해하기 위해서 투여되는 제제의 개수를 3으로 제한해서 논의를 계속하기로 한다( $n_1 = n_2 = n_3$ ).

세 가지 약물의 생체이용률을 측정하고 그들의 생물학적 동등성을 비교하기 위해서 3n의 실험집단을 임의로 세 집단으로 구분해서 다음과 같은 방식으로 배치하여 실험을 진행한다고 하자.

Table I과 같은 방식의 설계하에서 모형 (1)은 제제효과를 나타내는 모수  $F_{(j,k)}$ 와 잔류효과를 나타내는 모수

Table I—3×3 Crossover Design

Group	Subject	Period		
		I	II	III
1	1	Reference	Test 1	Test 2
	⋮			
	n			
2	n+1	Test 2	Reference	Test 1
	⋮			
	2n			
3	2n+1	Test 1	Test 2	Reference
	⋮			
	3n			

C<sub>(j-1,k)</sub>를 다음과 같이 재정의(reparametrizing parameters)해 보면 모형의 의미를 보다 잘 이해할 수 있다.

$$F_{(j,k)} = \begin{cases} F_R, (j,k) = (1,1), (2,2), (3,3) \\ F_{T1}, (j,k) = (2,1), (3,2), (1,3) \\ F_{T2}, \text{ 그 외} \end{cases}$$

$$C_{(j-1,k)} = \begin{cases} C_R, (j,k) = (2,1), (3,2) \\ C_{T1}, (j,k) = (2,3), (3,1) \\ C_{T2}, (j,k) = (2,2), (3,3) \\ 0, \text{ 그 외} \end{cases}$$

(2)의 조건을 만족하는 모형 (1)의 통계적 의미와 모형의 모수들에 관한 다양한 추론을 위해 먼저 분산분석표를 고려해 보기로 하자. 먼저 총변동 SS<sub>Total</sub>는 다음과 같이 분해될 수 있다.

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

또한, SS<sub>Between</sub>은 다시 순서효과를 추론할 수 있는 SS<sub>Sequence</sub>와 오차항 SS<sub>Intra</sub>로 구분해 볼 수 있다.

$$SS_{Between} = \sum_k \sum_j \sum_i (\bar{Y} \dots_k - \bar{Y} \dots)^2 + \sum_k \sum_j \sum_i (\bar{Y}_{i \cdot k} - \bar{Y} \dots_k)^2$$

그리고 SS<sub>Within</sub>은 기간효과를 추론할 수 있는 SS<sub>Period</sub>, 제제효과를 추론할 수 있는 SS<sub>Drug</sub>, 잔류효과를 추론할 수 있는 SS<sub>Carryover</sub>, 오차항 SS<sub>Intra</sub>로 구분해 볼 수 있다.

$$\begin{aligned} SS_{Within} &= \sum_k \sum_j \sum_i (\bar{Y} \dots_j - \bar{Y} \dots)^2 + \sum_k \sum_j \sum_i (\hat{\mu}_{jk} - \bar{Y} \dots)^2 \\ &+ \sum_k \sum_j \sum_i (\bar{C}_{jk} - \bar{Y} \dots)^2 + \sum_k \sum_j \sum_i R_{ijk}^2 \end{aligned}$$

여기서

$$\hat{\mu}_{jk} = \begin{cases} \hat{\mu}_R, (j, k) = (1, 1), (2, 2), (3, 3) \\ \hat{\mu}_{T1}, (j, k) = (2, 1), (3, 2), (1, 3) \\ \hat{\mu}_{T2}, \text{ 그 외} \end{cases}$$

$$\hat{\mu}_R = \frac{\bar{Y} \dots_{11} + \bar{Y} \dots_{22} + \bar{Y} \dots_{33}}{3},$$

$$\hat{\mu}_{T1} = \frac{\bar{Y} \dots_{21} + \bar{Y} \dots_{32} + \bar{Y} \dots_{13}}{3},$$

$$\hat{\mu}_{T2} = \frac{\bar{Y} \dots_{31} + \bar{Y} \dots_{12} + \bar{Y} \dots_{23}}{3},$$

$$\bar{C}_{jk} = \begin{cases} \hat{C}_R, (j, k) = (3, 1), (2, 2), (1, 3) \\ \hat{C}_{T1}, (j, k) = (2, 1), (1, 2), (3, 3), \\ \hat{C}_{T2}, \text{ 그 외} \end{cases}$$

$$\hat{C}_R = \frac{\bar{Y} \dots_{31} + \bar{Y} \dots_{22} + \bar{Y} \dots_{13}}{3},$$

$$\hat{C}_{T1} = \frac{\bar{Y} \dots_{21} + \bar{Y} \dots_{12} + \bar{Y} \dots_{33}}{3},$$

$$\hat{C}_{T2} = \frac{\bar{Y} \dots_{11} + \bar{Y} \dots_{32} + \bar{Y} \dots_{23}}{3},$$

$$R_{ijk} = Y_{ijk} - \bar{Y}_{i \cdot k} - \bar{Y} \dots_j - \hat{\mu}_{jk} - \bar{C}_{jk} + \bar{Y} \dots$$

이다. 위의 제곱항들의 자유도와 평균제곱합(제곱합/자유도)의 기대값을 정리하면 다음 Table II와 같다.

분산분석표의 E(평균제곱합)을 살펴보면 교차설계법에서 왜 잔류효과가 있으며 분석상 많은 어려움을 주는지 쉽게 알 수 있다. 즉, 분석의 초점이 되는 제제효과가 잔류효과에 영향을 받고 있기 때문에(confounded) 잔류효과가 있을 때는 제제효과를 제대로 추론할 수 없다. 따라서 Table II로부터 잔류효과의 존재에 관한 검정이 가장 먼저 수행되어야 한다. 검정통계량 F<sub>Carryover</sub> = MS<sub>Carryover</sub>/MS<sub>Intra</sub>로 잔류효과가 있는지를 검정할 수 있다.

두 번째로 잔류효과가 없다는 가정하에서 순서효과를 검정할 수 있을 것이다. 즉, C<sub>R</sub>=C<sub>T1</sub>=C<sub>T2</sub>=0 일 때

**Table II**—ANOVA Table of 3×3 Crossover Design in Statistical Model(1)

Source of variation	Degree of freedom	E(Sum of mean square)
Inter-subjects		
Sequence	2	$\sigma_e^2 + 3\sigma_s^2 + n(G_1^2 + G_2^2 + G_3^2) + n/6(C_R^2 + C_{T1}^2 + C_{T2}^2) - n(G_1 C_{T2} + G_2 C_{T1} + G_3 C_R)$
Residual	3n-3	$\sigma_e^2 + 3\sigma_s^2$
Intra-subjects		
Drug	2	$\sigma_e^2 + n/2[(F_R - F_{T1})^2 + (F_R - F_{T2})^2 + (F_{T1} - F_{T2})^2] + 2n/9[(C_R - C_{T1})^2 + (C_R - C_{T2})^2 + (C_{T1} - C_{T2})^2] + 2n(F_R C_{T2} + F_{T1} C_R + F_{T2} C_{T1})$
Period	2	$\sigma_e^2 + n/2[(P_1 - P_2)^2 + (P_1 - P_3)^2 + (P_2 - P_3)^2]$
Carryover	2	$\sigma_e^2 + n/18[(C_R - C_{T1})^2 + (C_R - C_{T2})^2 + (C_{T1} - C_{T2})^2]$
Residual	2(3n-3)	$\sigma_e^2$
Total	9n-1	

검정통계량  $F_{Sequence} = MS_{Sequence} / MS_{Inter}$ 로 순서효과가 있는지를 검정할 수 있을 것이다. 세 번째로 잔류효과가 없을 때  $F_{Drug} = MS_{Drug} / MS_{Intra}$ 로 제제효과가 있는지를 검정해 볼 수 있다.

일반적으로 교차실험을 할 때 충분한 휴약 기간 (washout period)을 두어 잔류효과가 나타나는 것을 방지하는 이유가 바로 여기에 있다. 만약 잔류효과가 존재하면 실제 실험의 목적이 되는 제제효과를 정확하게 추론하는데 장애가 되기 때문에 교차실험에서 기간과 기간사이에 충분한 휴약 기간을 두어 잔류효과가 생기는 것을 방지해야 한다.

마지막으로 검정통계량  $F_{Period} = MS_{Period} / MS_{Intra}$ 을 이용해서 기간효과가 있는지를 검정해볼 수 있는데 기간효과는 잔류효과의 존재 여부와 관련 없이 검정할 수 있다.

분산분석표에서 얻을 수 있는 유용한 정보 중 제제효과의 추론에 사용되는  $\sigma_e^2$ 의 추정량을  $MS_{Intra}$ 를 통

해 얻을 수 있고  $MS_{Intra}$ 와  $MS_{Inter}$ 를 이용해서  $\sigma_s^2$ 도 추정할 수 있다.  $MS_{Intra}$ 는 3×2 교차설계법에서 제제들의 생물학적 동등성을 판단하는데 매우 중요하게 사용된다.

잔류효과가 존재하면 실제 3×3 교차설계법을 고려하는 의미가 없기 때문에 충분한 휴약 기간으로 잔류효과가 존재하지 않는다는 가정 하에서 3×3 교차설계법의 통계적 모형을 다음과 같이 고려해보자.

$$Y_{ijk} = \mu + G_k + S_{ik} + P_j + F_{(i,k)} + \epsilon_{ijk} \quad (3)$$

(i = 1, ..., n, j = 1, 2, 3, k = 1, 2, 3)

모형 (1)에서 논의한 바와 같이 모형 (3)의 분산분석표는 다음과 같이 만들어 볼 수 있다.

이영주 등<sup>5)</sup>에 의해서 고려된 모형이 바로 모형 (3)이다. 모형 (1)에서 계산된 제곱합 중  $SS_{Carryover}$ 는 오차항  $SS_{Intra}$ 으로 합쳐지게 된다.

Table III에서 얻은 분산분석표를 이용하면 제제효

**Table III**—ANOVA Table of 3×3 Crossover Design in Statistical Model(3)

Source of variation	Degree of freedom	E(Sum of mean square)
Inter-subjects		
Sequence	2	$\sigma_e^2 + 3\sigma_s^2 + n(G_1^2 + G_2^2 + G_3^2)$
Residual	3n-3	$\sigma_e^2 + 3\sigma_s^2$
Intra-subjects		
Drug	2	$\sigma_e^2 + n/2[(F_R - F_{T1})^2 + (F_R - F_{T2})^2 + (F_{T1} - F_{T2})^2]$
Period	2	$\sigma_e^2 + n/2[(P_1 - P_2)^2 + (P_1 - P_3)^2 + (P_2 - P_3)^2]$
Residual	2(3n-2)	$\sigma_e^2$
Total	9n-1	

과의 검정 뿐만 아니라 순서효과의 검정이나 기간효과의 검정 등도 F-검정통계량을 이용해서 검정을 수행할 수 있으며 비교하려는 제제들의 생물학적 동등성을 판단하는 기초적인 자료로 활용할 수 있다(김병수<sup>7)</sup>).

### 3×2 교차설계법

Westlake<sup>8)</sup>는 여러 개의 제제를 비교할 때 3×3과 같은 균형 완전 교차 설계(balanced complete crossover design)가 시간이 많이 걸리고, 또한 이로 인해 결측치가 많이 생길 수 있다는 단점을 지적하면서 시간을 줄이는 방향으로 균형 비완 교차설계(balanced incomplete block design)를 고려하는 것을 권하고 있다. 2개의 새롭게 개발된 제제와 기존의 제제간에 생물학적 동등성 시험을 3×2 교차설계법을 통해 고려해보자.

3×2 교차설계법은 모형에 포함되어 있는 추정량들이 통계적으로 바람직한 성질을 만족하게 하기 위하여 각 제제가 동일한 수만큼 나타나도록 만들었다. 이러한 설계의 장점은 (1) 모든 쌍의 제제효과와의 차이를 동일한 정도(degree of freedom)로 추정이 가능하고, (2) 모형에 포함되어 있는 여러 효과들이 비직교(non-orthogonal)임에도 불구하고 분석이 간단하며, (3) 각 제제효과와의 불편추정량(unbiased estimator)을 찾을 수 있다는 데 있다.

3×2 교차설계법의 경우 잔류효과가 고려된 모형에서는 제제효과에 대한 추론이 어렵다. 즉, 잔류효과가 존재하는지에 대한 검정이 어렵기 때문에 실험의 설계나 수행단계에서 충분한 대기시간을 두어 잔류효과가 나타나지 않도록 해야 한다. 실제로 생물학적 동등성 시험의 대상이 되는 약물의 경우 이미 반감기가 잘 알려져 있으므로, 이를 활용하여 충분한 휴약 기간을 두

면 이 전제조건을 충분히 만족시킬 수 있다.

· 3×2 교차설계법에 대한 통계적 모형은 다음과 같이 고려해볼 수 있다.

$$Y_{ijk} = \mu + G_k + S_{ik} + P_j + F_{(j,k)} + \epsilon_{ijk} \quad (4)$$

(i=1, ..., n, j=1, 2, k=1, 2, 3)

모형 (4)의 통계적 의미와 모형의 모수들에 관한 다양한 추론을 위해 분산분석표를 고려해 보기로 하자. 모형 (1)에서와 같이 총제곱합 SS<sub>Total</sub>은 SS<sub>Within</sub>과 SS<sub>Between</sub>으로 나누어지고, SS<sub>Between</sub>은 다시 순서효과를 추론할 수 있는 SS<sub>Sequence</sub>와 오차항 SS<sub>Inter</sub>로 나누어지게 될 것이다.

$$SS_{Between} = \sum_{k=1}^3 \sum_{j=1}^2 \sum_{i=1}^n (\bar{Y}_{...k} - \bar{Y}_{...})^2 + \sum_{k=1}^3 \sum_{j=1}^2 \sum_{i=1}^n (\bar{Y}_{i..k} - \bar{Y}_{...k})^2$$

SS<sub>Within</sub>은 기간효과를 추론할 수 있는 SS<sub>Period</sub>, 제제효과를 추론할 수 있는 SS<sub>Drug</sub>, 오차항 SS<sub>Intra</sub>로 구분해 볼 수 있다. 즉,

$$SS_{Period} = \sum_{k=1}^3 \sum_{j=1}^2 \sum_{i=1}^n (\bar{Y}_{.j.} - \bar{Y}_{...})^2$$

$$SS_{Drug} = n/6[(\bar{Y}_{.11} - \bar{Y}_{.21} - \bar{Y}_{.12} + \bar{Y}_{.22})^2 + (\bar{Y}_{.12} - \bar{Y}_{.22} - \bar{Y}_{.13} + \bar{Y}_{.23})^2 + (\bar{Y}_{.11} - \bar{Y}_{.21} - \bar{Y}_{.13} + \bar{Y}_{.23})^2]$$

$$SS_{Intra} = \sum_{k=1}^3 \sum_{j=1}^2 \sum_{i=1}^n (Y_{ijk} - \bar{Y}_{i..k})^2 - SS_{Period} - SS_{Drug}$$

위 식과 관련된 모형 (4)의 분산분석표는 아래와 같다. 이를 이용하여 제제효과와의 유무를 확인해 볼 수 있다.

위 분산분석표에서 알 수 있듯이, 3×2 교차설계의 경우에는 제제효과가 존재하지 않을 때에 한하여 순서효과에 관한 검정을 할 수 있다. 물론 제제효과를 포함하지 않는 새로운 모형을 정의하여 순서효과를 검정해 볼 수도 있겠지만, 시험의 목적이 제제효과와의 추론인 만큼 이러한 시도는 별 의미가 없을 것으로 보인다. 물론 이 경우, 제제효과가 존재한다면 순서효과의 검정은 불가능하다. 기존의 2×2 교차 실험법에서는 잔류효과가 없다는 전제하에서 순서효과를 검정을 하게 되고, 이것이 중요한 의미를 갖게 되지만(고송곤 등<sup>9)</sup>, 이는 제제효과와의 검정에 그 영향을 주기 때문이다. 그러나 3개의 제제가 비교될 경우, 순서효과의 유무는 제제효과와의 검정에 영향을 주지 않으므로, 시험에서 특

Table IV—3×2 Crossover Design

Group	Subject	Period	
		I	II
1	1	Reference	Test 1
	⋮		
	n		
2	n+1	Test 2	Reference
	⋮		
	2n		
3	2n+1	Test 1	Test 2
	⋮		
	3n		

별히 순서효과에 관한 관심이 없다면 더 이상의 논의는 의미가 없다.

생물학적 동등성의 판정은 식품의약품안전청 고시 제 1998-86호 생물학적 동등성 시험기준<sup>1)</sup>에 따라 행할 수 있다. 이 기준은 2×2 교차설계의 경우

1) 대조약과 시험약의 비교항목 평균치의 차이는 대조약의 20%이내 이어야 하고,

2) 분산분석에 의한 검정 원칙적으로 유의수준  $\alpha$ 는 5~10%로 하고, 그 때의 정도는 검출력(1- $\beta$ )은 0.8로 최소검출차  $\Delta$ 는 0.2이하로 합이 바람직하고 의약품의 종류에 따라 최소검출차의 의미를 고찰할 필요가 있으며,

3) 두 제제의 생체이용률의 차의 신뢰한계를 구해 2)의 결과와 합쳐 평가한다는 것이다.

3×2 교차설계의 경우에서  $\mu_R = \mu + F_R$ ,  $\mu_{T1} = \mu + F_{T1}$ ,  $\mu_{T2} = \mu + F_{T2}$ 라 하고,  $\hat{\mu}_R$ ,  $\hat{\mu}_{T1}$ ,  $\hat{\mu}_{T2}$ 를 이들의 불편 추정량(unbiased estimator)이라 하고 위 기준을 적용하면

$$1) \frac{|\hat{\mu}_{T1} - \hat{\mu}_R|}{\hat{\mu}_R} \times 100 \leq 20\% \text{와} \frac{|\hat{\mu}_{T2} - \hat{\mu}_R|}{\hat{\mu}_R} \times 100$$

$\leq 20\%$  이어야 하고,

2) Table V에서 분산분석 결과 제제효과에 대한 F-검정이 유의수준 5% 혹은 10%하에서 유의하지 않아야 하며, 비심도  $\hat{\lambda} = \frac{(0.2\hat{\mu}_R)^2}{2\hat{\sigma}_e^2} \times n$ (여기서  $\hat{\sigma}_e^2 = MS_{\text{res}}$ )

에서 F-검정력이 80%를 넘어야 하며,

3) Dunnett의 표<sup>10)</sup>를 이용해서  $\mu_{T1} - \mu_R$ 과  $\mu_{T2} - \mu_R$ 의 90% 혹은 95% 신뢰구간을 대조약에 대한 백분율로 환산하여 (20, 20)의 동등구간에 포함된다면 고려된 3가지

제제의 생물학적 동등성을 판정할 수 있을 것이다.

첫번째 기준을 확인하기 위해  $\mu_R$ ,  $\mu_{T1}$ 과  $\mu_{T2}$ 의 불편추정량들이 필요한데 이들은 다음과 같은 대비(contrast)들에 의해서 얻을 수 있다.

$$\hat{\mu}_R = \begin{pmatrix} \frac{3}{6} & -\frac{1}{6} \\ -\frac{1}{6} & \frac{3}{6} \\ \frac{1}{6} & \frac{1}{6} \end{pmatrix} \# \begin{pmatrix} \bar{Y}_{\cdot 11} \bar{Y}_{\cdot 21} \\ \bar{Y}_{\cdot 12} \bar{Y}_{\cdot 22} \\ \bar{Y}_{\cdot 13} \bar{Y}_{\cdot 23} \end{pmatrix}$$

$$= \frac{3}{6} \bar{Y}_{\cdot 11} - \frac{1}{6} \bar{Y}_{\cdot 21} - \frac{1}{6} \bar{Y}_{\cdot 12} + \frac{3}{6} \bar{Y}_{\cdot 22} + \frac{1}{6} \bar{Y}_{\cdot 13} + \frac{1}{6} \bar{Y}_{\cdot 23} \tag{5}$$

$$\hat{\mu}_{T1} = \begin{pmatrix} -\frac{1}{6} & \frac{3}{6} \\ \frac{1}{6} & \frac{1}{6} \\ \frac{3}{6} & -\frac{1}{6} \end{pmatrix} \# \begin{pmatrix} \bar{Y}_{\cdot 11} \bar{Y}_{\cdot 21} \\ \bar{Y}_{\cdot 12} \bar{Y}_{\cdot 22} \\ \bar{Y}_{\cdot 13} \bar{Y}_{\cdot 23} \end{pmatrix}$$

$$= -\frac{1}{6} \bar{Y}_{\cdot 11} + \frac{3}{6} \bar{Y}_{\cdot 21} + \frac{1}{6} \bar{Y}_{\cdot 12} + \frac{1}{6} \bar{Y}_{\cdot 22} + \frac{3}{6} \bar{Y}_{\cdot 13} - \frac{1}{6} \bar{Y}_{\cdot 23} \tag{6}$$

$$\hat{\mu}_{T2} = \begin{pmatrix} \frac{1}{6} & \frac{1}{6} \\ \frac{3}{6} & -\frac{1}{6} \\ -\frac{3}{6} & \frac{3}{6} \end{pmatrix} \# \begin{pmatrix} \bar{Y}_{\cdot 11} \bar{Y}_{\cdot 21} \\ \bar{Y}_{\cdot 12} \bar{Y}_{\cdot 22} \\ \bar{Y}_{\cdot 13} \bar{Y}_{\cdot 23} \end{pmatrix}$$

**Table V**—ANOVA Table of 3×2 Crossover Design in Statistical Medel(4)

Source of variation	Degree of freedom	E(Sum of mean square)
Inter-subjects		
Sequence	2	$\sigma_e^2 + 2\sigma_s^2 + n(G_1^2 + G_2^2 + G_3^2) + n(F_R^2 + F_{T1}^2 + F_{T2}^2) - 2n(G_1 F_{T2} + G_2 F_{T1} + G_3 F_R)$
Residual	3n-3	$\sigma_e^2 + 2\sigma_s^2$
Intra-subjects		
Drug	1	$\sigma_e^2 + n/4[(F_R - F_{T1})^2 + (F_R - F_{T2})^2 + (F_{T1} - F_{T2})^2]$
Period	2	$\sigma_e^2 + 3n/2(P_1 - P_2)^2$
Residual	3(n-1)	$\sigma_e^2$
Total	6n-1	

$$= \frac{1}{6} \bar{Y}_{.11} + \frac{1}{6} \bar{Y}_{.21} + \frac{3}{6} \bar{Y}_{.12} - \frac{1}{6} \bar{Y}_{.22} - \frac{1}{6} \bar{Y}_{.13} + \frac{3}{6} \bar{Y}_{.23} \quad (7)$$

여기서, 기호 #은 두 행렬의 같은 위치에 있는 원소들의 곱의 합을 의미한다.

두번째 기준에서 비심도는 다음과 같이 계산할 수 있다. 제제효과에 대한 동일성에 대한 귀무가설은  $H_0: (F_R - F_{T1})^2 + (F_{T1} - F_{T2})^2 + (F_{T2} - F_R)^2 = 0$ 으로 표현할 수 있고 이는 다시 다음과 같은 식으로 표현할 수 있다.

$$H_0: (\mu_R - \mu_{T1})^2 + (\mu_{T1} - \mu_{T2})^2 + (\mu_{T2} - \mu_R)^2 = 0$$

분산분석표에서 이에 대한 검정통계량  $MS_{Drug}/MS_{Intra}$ 는 자유도 2와  $3(n-1)$ 의 자유도, 비심도  $\lambda$ 를 가진 비심 F-분포(noncentral F-distribution)를 따른다는 것이 잘 알려져 있다. 여기서

$$\lambda = \frac{n}{4\sigma^2} \{(\mu_R - \mu_{T1})^2 + (\mu_{T1} - \mu_{T2})^2 + (\mu_{T2} - \mu_R)^2\} \quad (8)$$

이다. 즉, 귀무가설하에서는  $\lambda=0$ 이다. 대립가설하에서 검정력을 계산하기 위해서 다음과 같은 대립가설하의 한 점을 생각해 보자. 두 가지 시험제제와 대조제제의 평균비가 0.8에서 1.2사이에 있으면 생물학적 동등성을 판단하고 있으므로 동등성의 기준이 되는 경계점  $\mu_{T1} = 0.8\mu_R$  혹은  $1.2\mu_R$ 와  $\mu_{T2} = 0.8\mu_R$  혹은  $1.2\mu_R$ 을 (8)에 대입해보면

$$\lambda = \frac{(0.2\mu_R)^2}{2\sigma^2} \times n \quad (9)$$

을 얻는다. 따라서 위 값의 추정치  $\hat{\lambda}$ 에서 F-검정력을 계산해서 80%가 넘는지를 확인하면 된다.

세번째 기준에서 신뢰계수  $(1-2\alpha) \times 100\%$ 의  $\mu_{T1} - \mu_R$ 과  $\mu_{T2} - \mu_R$ 의 Dunnett의 신뢰구간을 계산해보면

$$|\hat{\mu}_{T1} - \hat{\mu}_R| \pm d(\alpha, 2, 3(n-1)) \times \sqrt{\frac{2\hat{\sigma}_e^2}{3n}},$$

$$|\hat{\mu}_{T2} - \hat{\mu}_R| \pm d(\alpha, 2, 3(n-1)) \times \sqrt{\frac{2\hat{\sigma}_e^2}{3n}}$$

이고 이 구간들을 대조약의 백분율로 환산하여, 주어진 기준, 예를 들어, 20/20 동등성 기준, 의 동등 구간에 포함되면, 두 시험약이 대조약과 생물학적으로 동

등하다고 판단할 수 있다.

### 통계 해석 응용 예

이영주 등<sup>5)</sup>에 의해서 제시된 온단세트론 제제의 생물학적 동등성 시험의 자료를 이용해서 3×2 교차설계법하의 생물학적 동등성 여부를 알아보자. 이 자료에서 3번째 기간에 관련된 자료는 없었던 것으로 가정하고 3가지 제제의 생물학적 동등성을 위에서 논의한 3가지 기준에 의해서 판단할 수 있는지를 살펴보기로 하자.

첫번째 기준을 맞추는지를 살펴보기 위하여  $\mu_R$ ,  $\mu_{T1}$ 과  $\mu_{T2}$ 의 불편추정량들을 계산해 보면  $\hat{\mu}_R = 12865.976$ ,  $\hat{\mu}_{T1} = 13886.214$ , 그리고  $\hat{\mu}_{T2} = 13877.024$ 이다.

시험약 1 :

$$\frac{|13886.214 - 12865.976|}{12865.976} \times 100 = 7.93\%$$

시험약 2 :

$$\frac{|13977.024 - 12865.976|}{12865.976} \times 100 = 8.64\%$$

이므로 두 시험약이 모두 20% 미만임을 알 수 있다.

두번째 기준을 보기 위해 다음과 같은 분산분석표를 만들어 볼 수 있다.

위 분산분석표에서 제제효과를 살펴보면 유의수준 10%(F(2, 18, 0.1)=2.6239)에서 유의하지 않음을 알 수 있고, 자유도 2와 18에서 비심도  $\hat{\lambda} = 8.7978$ 의 F-검정력은 0.8005이므로 80%가 넘는 것으로 나타났다.

세번째 기준인 Dunnett의 표를 이용한  $\mu_{T1} - \mu_R$ 과  $\mu_{T2} - \mu_R$ 의 90% 신뢰구간을 계산해 보면 아래와 같다.

$$|\hat{\mu}_{T1} - \hat{\mu}_R| \pm d(\alpha, 2, 18) \times \sqrt{\frac{2MS_{Intra}}{21}} \\ = (-181.85, 2222.33),$$

$$|\hat{\mu}_{T2} - \hat{\mu}_R| \pm d(\alpha, 2, 18) \times \sqrt{\frac{2MS_{Intra}}{21}} \\ = (-91.04, 2313.14)$$

이들 두 신뢰구간 모두 0을 포함하고, 이를 대조약에 대한 백분율로 환산하면, 각각 (-1.41, 17.27) 그리고 (-0.70, 17.98)이 되어 동등구간 (-20, 20)에 포함된다.

이상의 3가지 기준 모두가 각 시험제제의 생물학적 동등성 기준을 만족하는 것으로 나타나 AUC 측면에서 3×2 교차설계법에 따라 통계적으로 분석할 때 두 가지 온단세트론 시험약은 대조약과 모두 생물학적으로

**Table VI**—ANOVA Table of 3×2 Crossover Design for Exemplified AUC Data of Ondansetron Formulations\*

Source of variation	Degree of freedom	Sum of square	Sum of mean square	F-test
Inter-subjects				
Sequence	2	43,106,000	21,553,000	0.7015
Residual	18	553,038,000	30,724,300	
Intra-Subjects				
Drug	2	7,992,456.3	3,996,228.15	1.5171
Period	1	22,172	22,172	0.0917
Residual	18	47,414,815	2,634,156.41	
Total	41	651,573,000		

\*AUC data were taken from Ref. 5 (J. Kor. Pharm. Sci., 28, 35-42, 1998).

로 동등함을 확인할 수 있었으며, 이영주 등<sup>5)</sup>이 제시한 3×3 교차설계법의 통계분석치와 크게 다르지 않음을 알 수 있었다.

## 결 론

생물학적 동등성 시험은 시험약들과 대조약의 효과가 생물학적으로 서로 상호 호환 사용될 수 있다는 것을 의미한다. 생물학적 동등성 시험은 2×2 교차설계법을 중심으로 많이 이루어져 왔으나 최근 이영주 등<sup>5)</sup>에 의해서 동일한 유효성분을 가지면서 용량이 다른 두 가지 제제들의 생물학적 동등성 시험에 3×3 교차설계법이 이용되었다. 이 방법은 2×2 교차설계에 의한 시험을 별도로 2회 실시하여 각각의 생물학적 동등성을 평가하는 것에 비하여 개발비용을 많이 줄일 수 있다는 장점이 있긴 하나, 한편으로는 3시기에 걸친 시험 과정 중 피험자가 탈락할 가능성을 배제할 수 없는 단점이 있다.

본 연구는 3×3 교차설계법을 한 단계 더 확장시킨 3×2 교차설계법을 이용해서 두가지 시험약과 대조약의 생물학적 동등성을 시험하는 통계적 절차에 관한 논문이다. 3×3 교차설계법에서 가장 일반적인 모형인 (1)에서는 잔류효과가 존재하는지에 관한 검정을 할 수 있다. 만약 모형 (1)에서 잔류효과가 존재하지 않는다면 모형 (2)를 가정해서 제제효과에 관한 추론을 이행할 수 있지만 만약 잔류효과가 존재한다면 제제효과에 관한 추론은 어려워지며 첫 번째 기간의 자료만을 이용해서 제제효과에 관한 추론을 해야한다. 따라서 기간과 기간 사이에 충분한 휴약 기간을 두어 잔류효과가 존재하지 않도록 실험을 관리하는 것이 매우 중요하다.

잔류효과가 없다는 가정하에서 모형 (2)를 더욱 확장할 수 있는 데 그것이 바로 3×2 교차설계법이다. 3×2 교차설계법이 3×3 교차설계법과 다른 점은 순서

효과를 검정할 수 없다는 점이다. 이 점을 제외하면 3×2 교차설계법에 의해서도 두 가지 시험약과 대조약의 생물학적 동등성 판정을 3×3 교차설계법에서와 같이 수행할 수 있다. 즉, 실험자가 순서효과의 추론에 관해 특별한 관심이 없고 제제효과의 생물학적 동등성에만 관심이 있다면 3×2 교차설계법을 이용해도 3×3 교차설계법에서 얻은 결론을 동일하게 얻을 수 있다는 것이다. 3×2 교차설계법에서 기간 하나를 줄였기 때문에 생물학적 동등성 시험의 비용을 더욱 줄일 수 있고 비용뿐만 아니라 실험단위들의 관리도 짧아진 시험 기간 때문에 용이하다는 장점도 있다.

본 연구는 교차설계법에 의한 세가지 이상의 제제에 대한 생물학적 동등성 시험에 많은 도움을 줄 것으로 기대되며 ±20 범칙에 의한 생물학적 동등성 판정이나 3×2 교차설계법에서 비모수적인 방법을 활용한 생물학적 동등성 판정, 균형설계가 되지 않았을 때 생물학적 동등성 시험에 관한 통계적 절차 등에 관한 연구가 계속되어야 한다고 생각된다.

## 감사의 말씀

본 연구는 기초과학 연구소 학술연구조성비(과제번호 BSRI-97-1439) 지원에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

## 문 헌

- 1) 식품의약품안전청 고시 제1998-86호, 생물학적 동등성 시험 기준, 식품의약품안전청 (1998. 8. 26.).
- 2) M. Hills and P. Armitage, The two-period cross-over clinical trial, *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **8**, 7-20 (1979).
- 3) B. Jones and M.G. Kenward, *Design and*



- analysis of cross-over trials*, Chapman and Hall, London, p.40 (1989).
- 4) J. L. Fleiss, *The design and analysis of clinical experiments*, John Wiley & Sons, pp.263-290 (1986).
  - 5) 이영주, 이명걸, 정석재, 이민화, 심창구, 3×3라틴 방격법 모델에 따른 생물학적 동등성 시험의 통계 해석: 온단세트론 제제에 대한 적용 예, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **28**, 35-42 (1998).
  - 6) 오현숙, 고승곤, 김정일, 박상규, 두 개의 제제형식과 기존 제제간의 생물학적 동등성 검증, 한국통계학회 응용통계연구 심사중 (1998).
  - 7) 김병수, 생물학적 동등성 시험의 시험설계 및 데이터 해석, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **25**, 71-76 (1995).
  - 8) W.J. Westlake, The use of balanced incomplete block design in comparative bioavailability trials, *Biometrics*, **30**, 319-327 (1974).
  - 9) 고승곤, 백재욱, 오현숙, 두 제제 간 교차 실험의 해석과 생물학적 동등성 검증, 한국통계학회논문집 심사중 (1998).
  - 10) C.W. Dunnett, New tables for multiple comparisons with a control, *Biometrics*, **20**, 482-491(1964).