

## Assessment and Interpretation of Bioequivalence for Two Drug Formulations using Crossover Design

Seoung-gon Ko<sup>1)</sup>, Hyun Sook Oh<sup>2)</sup>

### Abstract

Crossover design is officially, except for special occasions, recommended by KFDA and FDA for assessing Bioequivalence between two drugs, one for reference and the other for innovator. Such design is regarded as a special case of latin square, split-plot or repeated measurement design and its main difference with other designing methods is that each subject in an experiment is exposed two drugs in sequence. Therefore general statistical analysis is not suitable since the model for this experiment includes carryover effect in addition to period and sequence effect. In this paper, analysis for crossover model with two drugs and its interpretation are mainly discussed and an example is given for illustration.

### 1. 개요

대부분의 생물학적 동등성 시험에서의 목적은 제제(drugs) 간 또는 동일 제제의 서로 다른 형식(drug formulations) 간의 차이가 있다고 할 수 있는가를 검증해 보는 것이다. 이러한 검증의 문제는 다양한 실험 설계를 통해 달성을 할 수 있겠으나, 각 실험 대상간의 차이가 검증하고자 하는 제제 효과의 추정에 편의를 제공할 수 있다는 사실을 고려하여 미국의 FDA(Food and Drug Administration, 1989)와 한국의 KFDA(Korean Food & Drug Administration, 1998)에서는 특별한 사유가 없는 한 교차 실험을 권장하고 있다. 교차실험이란 실험대상자들이 시험 제제(test drug; T)와 대조 제제(reference drug; R) 중 하나를 먼저 투여 받고 생체이용률(bioavailability) 특성치를 관찰한 다음, 일정 시간이 지난 후, 나머지 제제를 투여 받아 그 결과를 비교하는 것으로 이때 각 실험 대상자들은 두 순서 중에서 한 순서에 랜덤하게 배치된다. 즉, [표 1.1]에서 제시한 바와 같이, 두 개의 순서와 두 개의 기간이 있는 경우, 첫 번째 순서에 배치된 실험대상자들은 첫 번째 기간에 제제 R을 그리고 두 번째 기간에 제제 T를 투여 받는다. 한편, 두 번째 순서에 배치된 실험대상자들은 첫 번째 기간에 제제 T를 그리고 두 번째 기간에 제제 R을 투여 받게 된다. 이 실험으로부터의 결과는 네 개의 셀(cell) 평균으로 정리되고, 따라서 최대 네 개의 모수만을 추정할 수 있게 된다. 그러나, 관심있는 모수는 전체 평균, 순서 효과, 기간 효과, 제제 효과, 그리고 잔류효과로 정의되므로, 추가적인 가정 없이 이 모두를 적절하게 추정하기는 불가능하다. 따라서 교차실험의 경우 통계적 모형에서의 내재적인 가정이외에 실험 환경 또는 방법에서 관리할 수 있는 추가 가정이 필요하게 되며, 이는 통계적으로 모형의 재정의(reparameterization)로 표현되고 이를 기준으로 분석과 그 해석이 좌우된다.

1) (461-701) 경기도 성남시 수정구 복정동 산 65, 경원대학교, 응용통계학과, 조교수

2) (461-701) 경기도 성남시 수정구 복정동 산 65, 경원대학교, 응용통계학과, 조교수

		기간	
		1	2
순서	1	R	T
	2	T	R

[표 1.1] 두 제제(형식)의 비교에서의 교차 설계

먼저  $j$ 번째 순서와  $k$ 번째 기간, 그리고  $i$ 번째 실험 대상자들로부터 측정되는 생체이용률의 측정치를  $y_{ijk}$ 라고 할 때, 두 제제 또는 제제 형식간의 생물학적 동등성 검증을 위한  $2 \times 2$  교차설계의 모형을 정의하면 (1.1)과 같다.

$$\begin{aligned} y_{ijk} &= \mu + G_k + S_{ik} + P_i + F_{(j,k)} + C_{(j-1,k)} + \varepsilon_{ijk}, \\ S_{ik} &\sim N(0, \sigma_s^2), \quad \varepsilon_{ijk} \sim iid N(0, \sigma_e^2), \quad i = 1, 2, 3, \dots, n_k, \quad j = 1, 2, \quad k = 1, 2 \end{aligned} \quad (1.1)$$

여기서,  $\mu$ 는 전체 평균을 나타내고, 순서 효과( $G$ ), 기간효과( $P$ ), 제제 효과( $F$ ), 잔류효과( $C$ )는 (1.2)의 조건을 만족하고, 다음과 같은 값을 갖는다.

$$\sum G_j = 0, \quad \sum P_j = 0, \quad \sum \sum F_{(j,k)} = 0, \quad \sum \sum C_{(j-1,k)} = 0 \quad (1.2)$$

$$F_{(j,k)} = \begin{cases} F_R, & (j,k) = (1,1), (2,2), \\ F_T, & (j,k) = (1,2), (2,1) \end{cases} \quad \text{그리고} \quad C_{(j-1,k)} = \begin{cases} C_R, & (j,k) = (2,1) \\ C_T, & (j,k) = (2,2) \\ 0, & 그 외에 \end{cases}$$

또한, 각 기간×순서에 할당된 실험 대상자들의 표본 평균을  $\bar{y}_{jk}$ 라고 하고 이에 대한 기대값을  $\mu_{jk}$ 라고 정의하면, 이는 (1.2)의 조건에 따라 (1.3)과 같이 표현 될 수 있으며, 이때  $E$ 는  $X$ 의 Echelon 형태로서 설계행렬  $X$ 가 정칙행렬인지, 즉, 각 모수들의 추정이 가능한지를 알 수 있게 해준다 (Elswick et al.(1991)).

$$\begin{pmatrix} \mu_{11} \\ \mu_{21} \\ \mu_{12} \\ \mu_{22} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 1 & 1 & 1 & 1 & 0 \\ 1 & 1 & -1 & -1 & 1 \\ 1 & -1 & 1 & -1 & 0 \\ 1 & -1 & -1 & 1 & -1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \mu \\ G_1 \\ P_1 \\ F_R \\ C_R \end{pmatrix} \equiv X\beta, \quad E = \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 & 1 \\ 0 & 0 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 & -1 \end{pmatrix} \quad (1.3)$$

(1.3)에서 제시된  $E$ 의 형태를 보면, 잔류 효과가 순서와 제제 효과에 교락(confounding) 되어 있어  $\beta$ 의 최소자승 추정치는 존재하지 않는다는 것을 알 수 있다. 이러한 이유로, 실제 두 제제의 생물학적 동등성 검증에서는 제제를 교차 투여하는 사이에 충분한 휴약 기간(또는 대기 시간, washout periods)으로 설정되는 실험의 조건을 이용하여 본 논문 제 3 절에서 논의된 것과 같이 잔류효과가 없다고 가정하고 실험 결과를 분석을 하게 된다. 그러나, 잔류효과를 모형에 포함시키

는 이유가 잔류 효과가 존재한다고 믿기 때문이 아니라, 혹시 존재하는 경우 그 수준이 통계적으로 유의한가를 보고 싶기 때문이다라는 점(Hills and Armitage(1979))을 상기해 볼 때, 모형 재정의를 통해 잔류효과를 검정해 볼 수 있는 방법 역시 항상 고려해 보아야 한다.

제 2 절에서는 순서효과가 없다고 가정할 수 있는 경우에 대한 모형의 설정과 모수의 추정 그리고 분산분석 방법을 소개하고, 제 3 절에서는 잔류효과가 없는 모형에 대하여 그리고 제 4 절에서는 실제 예제를 통해 두 제제 형식간의 생물학적 동등성 검증 방법을 예증해 보기로 하고, 제 5 절에서는 결론과 추가적인 제안을 포함하기로 한다.

## 2. 모형 I : 순서 효과가 없는 경우

실험에서 실험대상자들을 각 순서에 할당할 때 랜덤화(randomization)에 충실했다면, 순서 효과가 존재하지 않는다고 가정 할 수 있다. 실험대상자들을 각각의 순서에 랜덤하게 할당하는 가장 간단한 방법은 동전을 던져, 앞면이 나오면 먼저 제제  $R$ 을 그리고 그 다음 제제  $T$ 를 투여하면 되고, 뒷면이 나온 경우에는 투여되는 제제의 순서를 반대로 하면 된다. 이 경우의 모형은 [모형 I]와 같이 전체평균, 기간 효과, 처리 효과, 그리고 잔류효과를 포함하게 되며, 이는 (1.2)의 조건을 만족한다.

$$\text{모형 I : } y_{ijk} = \mu + S_{ik} + P_j + F_{(j,k)} + C_{(j-1,k)} + \varepsilon_{ijk}, \\ S_{ik} \sim N(0, \sigma_s^2), \quad \varepsilon_{ijk} \sim iid N(0, \sigma_e^2), \quad i = 1, 2, 3, \dots, n_k, \quad j = 1, 2, \quad k = 1, 2$$

앞 절의 완전 모형 (1.1)에서와 같이, [모형 I]에서 각 기간×순서에 할당된 실험 대상자들의 표본 평균을  $\bar{y}_{jk}$ 라고 하고 이에 대한 기대값을  $\mu_{jk}$ 라고 정의하면, 이는 (2.2)와 같이 표현할 수 있고, 이 때 각 효과는 [표 2.1]을 이용하여 최소 자승 추정치를 구할 수 있으며, 분산분석표는 [표 2.2]와 같이 정의된다.

$$\begin{pmatrix} \mu_{11} \\ \mu_{21} \\ \mu_{12} \\ \mu_{22} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 1 & 1 & 1 & 0 \\ 1 & -1 & -1 & 1 \\ 1 & 1 & -1 & 0 \\ 1 & -1 & 1 & -1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \mu \\ P_1 \\ F_R \\ C_R \end{pmatrix} = X_I \beta, \quad (X_I' X_I)^{-1} = \begin{pmatrix} 0.25 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0.25 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0.5 & 0.5 \\ 0 & 0 & 0.5 & 1 \end{pmatrix} \quad (2.2)$$

		$\hat{\mu}$		$\hat{P}_1$		$\hat{F}_T$		$\hat{C}_T$	
		기간		기간		기간		기간	
		1	2	1	2	1	2	1	2
순서	1	1/4	1/4	1/4	-1/4	1/2	0	1/2	1/2
	2	1/4	1/4	1/4	-1/4	-1/2	0	-1/2	-1/2

[표 2.1] 최소자승 추정치에서 각 표본 평균  $\bar{y}_{jk}$ 의 계수: 순서효과가 없는 경우

요인	자유도	EMS	F-검정
<b>대상간변동</b>			
잔류 효과	1	$\frac{2n_1 n_2}{n_1 + n_2} (C_T - C_R)^2 + 2\sigma_s^2 + \sigma_e^2$	$F_c = MS_c / MS_{Inter}$
대상간 잔차 (Inter)	$n_1 + n_2 - 2$	$2\sigma_s^2 + \sigma_e^2$	
<b>대상내 변동</b>			
제제 효과	1	$\frac{2n_1 n_2}{n_1 + n_2} [(F_T - F_R) + (C_R - C_T)/2]^2 + \sigma_e^2$	$F_D = MS_D / MS_{Intra}$
기간 효과	1	$\frac{2n_1 n_2}{n_1 + n_2} (P_2 - P_1)^2 + \sigma_e^2$	$F_P = MS_P / MS_{Intra}$
대상내 잔차 (Intra)	$n_1 + n_2 - 2$	$\sigma_e^2$	
수정된 총변동	$2(n_1 + n_2) - 1$		

[표 2.2] 순서 효과가 없다고 가정한 경우의 ANOVA 표

(2.2)의  $(X_I' X_I)^{-1}$ 에서 제제와 잔류효과의 공분산의 계수를 보면 잔류 효과의 추정치는 제제 효과의 추정치보다 2배 더 가변적임을 알 수 있고, 이를 근거로 계산된 제제 효과와 잔류효과의 추정치 간의 상관계수는 약 0.707로 매우 높은 것을 알 수 있다. 따라서 [모형 I]을 이용할 경우, 제제의 효과와 실험에서의 잔류효과를 정확히 분리하는 것은 매우 어려우며, 이 경우 제제 효과는 과소 추정되는 경향이 있어 제제 및 잔류 효과가 모두 유의하지 않다는 결론에 도달할 가능성이 높다. 이러한 결과는 잔류효과가 첫 번째 순서에서 관측되는 두 기간동안의 평균값들과 두 번째 순서에서 관측되는 두 기간동안의 평균값들간의 차이로 정의되어져 가능한 자료를 모두 이용하는 반면, 제제 효과의 추정에는 첫 번째 기간만의 결과를 이용하게 됨을 보여주는 [표 2.1]로부터도 알 수 있다. 그리고, 분산분석표의 EMS항에서 알 수 있듯이, 잔류효과가 유의한 경우, 제제 효과의 유의성은 [표 2.2]를 이용해 검정할 수 없게 된다. 이러한 이유로, 교차 실험을 처음으로 제안한 Grizzle(1965)은 제제 효과와 잔류 효과의 동시적 검증보다는 다음과 같은 2단계 가설검정 절차를 제안하고 있다.

- (1) 잔류효과의 유의성 여부를 검정
- (2) (1)의 결과에서
  - 잔류효과가 유의한 경우, 첫 번째 기간 동안의 자료만으로 제제 효과를 추정
  - 잔류효과가 유의하지 않은 경우, 잔류효과를 모형에서 제외하고 분석

다음 절에서는 [모형 I]의 분석을 통해 잔류효과가 없다고 판단되는 경우에 대한 모형을 (1.1)로부터 정의하고 그 분석 방법을 고려해 보도록 한다.

### 3. 모형 II : 잔류 효과가 없는 경우

실험을 실시하는 방법과 환경에서 잔류효과가 무시할 만하다는 확신이 있는 경우 그리고 [모형 I]을 통한 분석에서 그 가정을 지지하는 결론을 얻은 후에 [모형 II]를 고려할 수 있다. 이 모형은 제 2 절에서 논의된 [모형 I]과 비교해 볼 때, 생물학적 동등성 시험에서 많은 장점을 갖게 된다. 따라서, 이러한 실험 환경 및 방법에 대한 기준으로 KFDA에서 제시하는 생물학적 동등성 시험 기준(한국식품의약안전청(1998))은 다음과 같은 “휴약 기간” 항목을 포함하고 있다.

「교차 시험시 휴약 기간은 전 회에 투여된 약물이 모두 체외로 배설 될 수 있는 충분한 기간으로 하여야 한다. 1회 투여 시에는 최종 검체채취 시점으로부터 유효성분 반감기의 최소한 3배 이상의 기간으로 하여야 하며, 의약품을 반복 투여하여 혈중 농도의 정상 상태에서 시험하는 경우의 휴약 기간은 유효 성분 반감기의 최소한 5배 이상이어야 한다.」

즉, 각 제제를 실험대상자에게 투여하는 두 기간 사이에 충분한 휴약 기간을 설정함으로서 잔류효과가 존재하지 않는다는 가정이 적합성을 갖도록 실험 방법을 제시하고 있는 것이다. 이 경우는 모형 (1.1)에서 잔류효과 모수를 제외한 것으로 [모형 II]와 같이 정의되며, 이 역시 (1.2)의 가정을 만족한다.

$$\text{모형 II : } y_{ijk} = \mu + G_k + S_{ik} + P_j + F_{(j,k)} + \varepsilon_{ijk}, \\ S_{ik} \sim N(0, \sigma_s^2), \quad \varepsilon_{ijk} \sim iid N(0, \sigma_e^2), \quad i = 1, 2, 3, \dots, n_k, \quad j = 1, 2, \quad k = 1, 2$$

[모형 II]에서 식 (1.3)과 (2.2)를 도출한 동일한 방법을 적용하면 (3.2)로 나타낼 수 있고, 각 효과의 최소자승 추정치는 [표 3.1]를 이용하여 구할 수 있으며, 이의 분산분석표는 [표 3.2]와 같이 정의된다.

$$\begin{pmatrix} \mu_{11} \\ \mu_{21} \\ \mu_{12} \\ \mu_{22} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 1 & 1 & 1 & 1 \\ 1 & 1 & -1 & -1 \\ 1 & -1 & 1 & -1 \\ 1 & -1 & -1 & 1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \mu \\ G_1 \\ P_1 \\ F_R \end{pmatrix} \equiv X_H \beta, \quad (X_H' X_H)^{-1} = \begin{pmatrix} 0.25 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0.25 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0.25 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0.25 \end{pmatrix} \quad (3.2)$$

		$\hat{\mu}$		$\widehat{G}_1$		$\widehat{P}_1$		$\widehat{F}_1$	
		기간		기간		기간		기간	
		1	2	1	2	1	2	1	2
순서	1	1/4	1/4	1/4	1/4	1/4	-1/4	1/4	-1/4
	2	1/4	1/4	-1/4	-1/4	1/4	-1/4	-1/4	1/4

[표 3.1] 최소자승 추정치에서 각 표본 평균  $\bar{y}_{jk}$ 의 계수 : 잔류효과가 없는 경우

요인	자유도	EMS	F-검정
<b>대상간 변동</b>			
순서 효과	1	$\frac{2n_1 n_2}{(n_1 + n_2)} (G_1 - G_2)^2 + 2\sigma_s^2 + \sigma_e^2$	$F_S = MS_S / MS_{Inter}$
대상간 잔차 (Inter)	$n_1 + n_2 - 2$	$2\sigma_s^2 + \sigma_e^2$	
<b>대상내 변동</b>			
제제 효과	1	$\frac{2n_1 n_2}{(n_1 + n_2)} (F_T - F_R)^2 + \sigma_e^2$	$F_D = MS_D / MS_{Intra}$
기간 효과	1	$\frac{2n_1 n_2}{(n_1 + n_2)} (P_1 - P_2)^2 + \sigma_e^2$	$F_P = MS_P / MS_{Intra}$
대상내 잔차 (Intra)	$n_1 + n_2 - 2$	$\sigma_e^2$	
수정된 총변동		$2(n_1 + n_2) - 1$	

[표 3.1] 잔류효과가 없는 경우의 분산분석표

제제 효과의 모수  $F_T$ 에 대한 추정치는 모든 측정된 자료를 이용하므로 제 2 절의 [모형 I]과 비교할 때 더 적은 분산을 가지고 추정할 수 있으며, 이 효과에 대한 검정은 대상내 오차(residuals within subjects)에 의해 검정되므로 대상간 오차에 의해 검정되는 순서 효과의 검정 결과에 영향을 받지 않게 되어 매우 바람직하다고 할 수 있다. 그리고  $(X_{II}'X_{II})^{-1}$ 에서 알 수 있듯이, 모든 효과는 서로 직교하고 있으므로 나머지 효과들의 추정치 역시 쉽게 계산된다는 장점을 갖는다.

여기서 주의해야 할 점은 [모형 I]의 잔류효과의 제곱합은 [모형 II]의 순서 효과의 제곱합과 그 값은 동일하고, 나머지 제제 효과, 기간 효과에 대한 제곱합의 값도 역시 동일하여, 두 분산분석표의 수치적인 값은 같다는 것이다. 그러나 그 해석에 있어서는 큰 차이가 있는데, 그 중 하나는 통계적으로 서로 다른 모형이라는 점을 들 수 있고, 두 번째로는 두 모형의 분산분석표에서 제제 효과의 제곱합을 구하는 식은 동일하지만, 그에 대한 평균제곱합의 기대값(expected mean squares; EMS) 항은 서로 다르게 정의된다는 것을 들 수 있다. 이에 대한 해석은 실제 예제를 통해 제 4절에서 논의하기로 한다.

#### 4. 예제 : Liu and Chow

[표 4.1]은 Liu 와 Chow(1992)가 제시한 24명의 건강한 성인을 대상으로 표준  $2 \times 2$  교차 실험을 실시한 자료로서, 동일 제제의 서로 다른 형식에 대한 생물학적 동등성을 시험하고자 조사되었다. 여기서 기존의 제제 형식은 50ml의 혼탁액 형태이고, 동일 용량의 캡슐 형태를 시험 제제로 하여, 각 제제를 교차 투약한 다음, 지정된 시간에 여러 번의 혈액 채취를 통하여 0시간부터 32시간까지의 혈장 농도 시간-곡선(plasma or blood concentration-time curve; AUC)의 값을 구한 것이다. 이러한 실제 실험의 분석에서 FDA 또는 KFDA에서 권장하는 시험 방법에 충실하여 실험을 수행했다고 하더라도, 즉, 기존의 제제 형식에 대한 생체 내 활동 시간을 기준으로 충분한 휴약 기간

을 두었다 하더라도, 새로운 제제 또는 제제 형식에 대한 생체 내 활동 시간이 기존 제제 또는 제제 형식과 차이가 있을 수 있으므로, 먼저 [모형 I]을 통해 잔류효과의 유무를 고려해야 한다. [표 4.2]는 잔류효과의 유무에 대한 검정을 위한 분산분석표이다.

순서	시험 대상 번호	기간 I	기간 II	순서	시험대상 번호	기간 I	기간 II
1	1	74.675	73.675	2	2	74.825	37.350
1	4	96.400	93.250	2	3	86.875	51.925
1	5	101.950	102.125	2	7	81.675	72.175
1	6	79.050	69.450	2	8	92.700	77.500
1	11	79.050	69.025	2	9	50.450	71.875
1	12	85.950	68.700	2	10	66.125	94.025
1	15	69.725	59.425	2	13	122.450	124.975
1	16	86.725	76.125	2	14	99.075	85.225
1	19	112.675	114.875	2	17	86.350	95.925
1	20	99.525	116.250	2	18	49.925	67.100
1	23	89.425	64.175	2	21	42.700	59.425
1	24	55.175	74.575	2	22	91.725	114.050

[표 4.1] 관측된 생체이용률 특성치(출처: Liu and Chow, 1992)

요인	자유도	제곱합	평균제곱합	F-값
<b>대상간 변동</b>				
잔류 효과	1	276.0*	276.0	0.375
대상간 잔차	22	16211.5	736.9	
<b>대상내 변동</b>				
제제 효과	1	62.8	62.8	0.375
기간 효과	1	36.0	36.0	0.215
대상내 잔차	22	3679.4	167.2	
수정된 총변동	23	20265.7		

\*모든 값은 표현된 자리수까지 반올림 되었음

[표 4.2] 잔류효과의 유의성 검정을 위한 분산분석표

[표 4.2]를 이용한 분산 분석의 결과, 잔류효과가 유의수준 0.05 또는 0.1하에서 유의하지 않으므로, 실험자는 [모형 II]를 가정할 수 있다. 따라서, 우리는 잔류효과가 존재하지 않는다는 가정 하에서, KFDA에서 제시하는 두 제제 형식의 생물학적 동등성을 시험해 볼 수 있는데, 생물학적 동등성 검증에 대한 통계적 기준은 아래와 같다(한국식품의약청(1998), 오현숙 등(1999)).

1. 대조약과 시험약의 비교 항목의 평균치 차이는 대조약의 20% 이내이어야 한다. 그리고

2. 분산분석은 원칙적으로 유의수준 5~10%로 하고, 그 정도(precision)로서 검출력  $(1 - \beta)$ 은 0.8로 그리고 최소 검출차  $\Delta$ 는 0.2이하로 함이 바람직하고 (의약품의 종류에 따라 최소검출차의 의미를 고찰할 필요가 있으며) 또한

3. 두 제제의 생체 이용률의 차의 신뢰 한계를 구해 2의 결과와 합쳐 평가한다. (4.1)

먼저 혼탁액의 평균과 캡슐제의 평균 AUC를 계산하면, 각각 82.5594 와 80.2719가 되어서 두 비교 항목의 평균치의 차이는 (4.2)에 의해 대조약의 20% 이내에 있으므로, (4.1)의 판정 기준 1 항을 만족하는 것을 알 수 있다.

$$\frac{|시험 제제 - 기존 제제|}{기존 제제} \times 100 = 2.77 \leq 20(\%) \quad (4.2)$$

그리고, 앞 절에서 논의된 [모형 I]과 [모형 II]의 분산분석표의 EMS항을 비교하여 증명하였듯이, [모형 I]을 이용한 잔류효과 검정에서 잔류효과가 유의한 경우에는 [표 2.2]를 이용하여 구한 [표 4.2]의 분산 분석표를 이용하여 제제 효과의 차이가 있는지를 검정할 수 없으나, 본 예제의 경우, 앞서 검증한 바와 같이, 잔류효과가 주어진 유의수준하에서 유의하지 않고, [모형 I]과 [모형 II]에서 제제효과의 제곱합을 구하는 식이 동일하고, 또한 순서효과와 잔류효과의 제곱합을 구하는 식이 동일하므로, [표 4.2]를 이용하여 제제 효과간의 차이를 검정할 수 있다. 결과는 유의수준 5~10%에서 유의하지 않게 나타났으므로, (4.1)의 판정 기준의 2 항을 만족한다고 할 수 있다. 추가로 검출력을 계산하기 위한 비심도는 (4.3)과 같으며, 이를 근거로 계산된 검출력은 0.9884가 되므로, 그 조건을 만족한다고 할 수 있다. 한편  $\alpha = 0.05$ , 자유도 22, 검출력  $1 - \beta = 0.8$  조건에서 비심  $t$ -분포 표를 참조하여, 비심도를 계산하면, 2.93217이 되어 최소검출차는 (4.4)에 의해 0.1611이 되고, 이는 0.2 보다 작다.

$$\text{비심도 계산} : \lambda_{(22, 0.05)} = \frac{\text{기존제제의 표본평균} \times 0.2}{\sqrt{MSE/n}} = \frac{82.5594 \times 0.2}{\sqrt{167.2/12}} = 4.4291 \quad (4.3)$$

$$\text{최소 검출차} : \Delta = \frac{\sqrt{MSE} \times \lambda_{(df, \alpha; 1-\beta=0.8)}}{\text{기존제제의 표본평균} \times \sqrt{n}} = \frac{\sqrt{167.2} \times 2.9322}{82.5594 \times \sqrt{12}} = 0.1611 \quad (4.4)$$

그리고 동등성 기준 (4.1)의 3항을 위한 두 제제의 생체 이용률의 차에 대한 90%신뢰 구간은 (4.5)와 같고, 이를 동등성 기준에 따라 비교해 보면  $(-8.20\%, 13.75\%) \subset (-20\%, 20\%)$ 가 되어 20/20 동등성 기준을 만족한다. 따라서, 고려되는 두 제제 형식들은 생물학적으로 동등하다고 할 수 있다.

$$90\% \text{ 신뢰구간} : \widehat{F}_R - \widehat{F}_T \pm t_{(0.05, 22)} \sqrt{2MSE/n} = (-6.77815, 11.3531) \quad (4.5)$$

## 5. 결 론

지금까지, 교차 설계의 모형의 소개와 분산분석을 중심으로 한 분석 방법 그리고 실제 예제를 통해 생물학적 동등성 검증에서의 그 이용을 알아보았다. 제 2 절에서 소개한 [모형 I]과 제 3절에서 소개한 [모형 II]의 분산분석표에서는 제제 효과의 제곱합은 동일하게 주어지지만, 그 해석에 있어서는 큰 차이가 있음을 EMS를 통해 증명하였다. 즉, [모형 I]에서 잔류 효과가 유의한 경우에

는 주어진 분산분석표를 이용하여 제제 효과의 차이 유무를 확인할 수 없으면, 이 경우 제제 효과의 추정에 있어 첫 번째 기간의 관측치만을 사용하게 되어 상대적으로 높은 산포(variability)의 정도를 가지고 추정된다. 이 때 잔류효과와 제제 효과사이의 상관계수가 매우 커서 두 효과간의 차이를 구분하기 힘들고 제제 간의 효과는 과소 추정 될 수 있어서 실제 생물학적으로 동등하지 않은 경우에도 동등하다고 판단할 수 있는 오류를 범할 가능성이 높아진다. 따라서, 생물학적 동등성의 시험에서는 가능한 한 휴약기간을 충분히 설정하여, 잔류효과가 발생하지 않도록 하는 것이 중요하지만, 그렇다고 [모형 I]을 통한 잔류효과의 검증을 생략해서는 안 된다. 이 논의를 비통계인(nonstatistician)적 관점 또는 차원에서 보면, 일반적으로 생물학적 동등성 시험에서 채택하고 있는 [모형 II]를 가정하되, 앞서 지적한 [모형 I]에서의 잔류효과의 제곱합과 [모형 II]의 순서 효과의 제곱합이 동일하다는 점에 근거하여, 분산 분석에서는 반드시 다음의 절차로 제제 효과를 검증해야 한다.

- (1) 순서 효과의 유의성을 검증한다.
- (2) 만일 순서 효과가 유의하지 않다면, 구해진 분산 분석표를 이용하여 제제 효과를 검증한다.

만일 순서 효과가 유의하다면, 구해진 분산 분석표를 이용하여 제제 효과를 검증할 수 없으므로, 제 1 기간의 자료만을 이용하여 각 제제 효과를 추정하고 이를 근거로 제제 효과의 유의성 여부를 검증한다.

현재 생물학적 동등성 검증은 제 4 절에서 예증된 바와 같이 생체이용률 특성치에서 제제 또는 제제 형식의 평균값의 검증이 주를 이루고 있지만, 진정한 의미의 생물학적 동등성 검증을 위해서는 이의 산포에 대한 검증 역시 고려해야 하며(Chow 와 Liu(1992)), 나아가 평균과 분산을 동시에 검증할 수 있는 방법이 모색되어야 한다. 또한 오현숙 등(1999)이 논의한 바와 같이, 최근 약학계에서 동일한 제제의 용량 또는 정, 캡슐, 혼탁액, 가루약 등의 투약 형태가 다른 여러 가지 제제 형식의 개발이 활발한 만큼 여러 제제 또는 제제 형식을 기준 제제와 비교하여, 동시에 또는 단일 실험에 의해, 생물학적 동등성을 검증할 수 있는 합리적이고 분석적인 방법이 모색되어야 한다.

## 6. 참고 문헌

- [1] 식품의약안전청(1998), 고시 제98-51호, 생물학적 동등성 기준, 제 5 장, 제 13조
- [2] 오현숙, 고승곤, 김정일, 박상규(1999), 두 개의 제제 형식과 기존 제제 간의 생물학적 동등성 검증, 응용통계 연구, 제 12권 1 호, 241-251.
- [3] Elswick, R.K., Gennings, C., Chinchilli, V.M. and Dawson, K.S.(1991), A simple approach for finding estimable functions in linear models, *American Statistician* 45, 51-53
- [4] FDA(1989), Federal Register, Vol. 42, No. 5, Sects. 320.26(b)
- [5] Grizzle, J.E.(1965), The two-period changeover design and its use in clinical trials, *Biometrics*, 21, 467-480
- [6] Hills, M. and Armitage, P.(1979). The two-period cross-over clinical trial. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 8, 7-20
- [7] Liu, J.-P and Chow, S.-C(1992), On the assessment of variability in bioavailability/bioequivalence studies, *Comm. Stat. - Theory and Meth.* 21(9), 2591-2607