

Assessing bioequivalence for highly variable drugs based on 3×3 crossover designs

Ji-Ae Park^a · Sang-Gue Park^{a,1}

^aDepartment of Applied Statistics, Chung-Ang University

(Received October 1, 2015; Revised January 4, 2016; Accepted January 15, 2016)

Abstract

Bioequivalence trials based on higher order crossover designs have recently been conducted for highly variable drugs since the Ministry of Korea Food and Drug Safety (MFDS) added new regulations in 2013 to widen bioequivalence limits for highly variable drugs. However, a statistical discussion of higher order crossover designs have not been discussed yet. This research proposes the statistical inference of bioequivalence based on 3×3 crossover design and discusses it with the MFDS regulations. An illustrated example is also given.

Keywords: bioequivalence, highly variable drugs, generic drug, original drug, 3×3 crossover design

1. 서론

생물학적동등성(이하 생동성) 시험은 오리지널 의약품(original drugs)의 특허기간이 만료된 후 오리지널 의약품과 제네릭 의약품(generic drugs)이 생체이용률(bioavailability)에 있어서 통계적으로 동등함을 입증하는 시험이다. 여기서, 제네릭 의약품은 오리지널 의약품과 성분, 함량, 제형 등을 동일하게 하여 만들어낸 것이고, 생체이용률은 약물 투여 후 활성성분(active ingredient)이 흡수되는 정도(extent)와 속도(rate)를 측정된 것으로 생체이용률 지표로는 AUC_t (Area Under Concentration-time curve, 혈중 약물농도-시간곡선 하 면적)와 C_{max} (the peak concentration, 최고혈중농도)를 사용한다.

두 제제간의 생동성은 일반적으로 2×2 교차설계법으로 시험하여 얻은 두 제제의 생체이용률 비의 90% 신뢰구간이 생동성 인정구간 (0.8, 1.25), 혹은 로그변환 된 두 제제의 생체이용률 차이의 90% 신뢰구간이 ($\log 0.8, \log 1.25$)에 포함되는 것을 통해 입증된다. 최근 들어 국내외에서 치료영역이 넓어 오리지널 의약품의 변동성이 큰 의약품의 생동성 시험 기준에 대해 논의가 많이 이루어지고 있다 (Benet, 2006; Blume, 2010; Jeong과 Park, 2011). 고변동성 제제(highly variable drug)는 생체이용률 AUC_t 또는 C_{max} 의 피험자내 변동성(within-subject variability)이 큰 제제를 의미하며, 일반적으로 피험자내 변동계수가 30%이상인 제제로 정의한다.

고변동성 제제의 경우 가장 큰 문제점은 일반적인 생동성 시험 설계법인 2×2 교차설계법에 의한 시험에서 지나치게 많은 피험자가 필요하다는 것이다. 오리지널 의약품의 경우 특허기간 동안 유효성과 안전

This Research was supported by the Chung-Ang University Research Scholarship Grants in 2013.

¹Corresponding author: Department of Applied Statistics, Chung-Ang University, 84 Heukseok-Ro, Dongjak-ku, Seoul 06974, Korea. E-mail: spark@cau.ac.kr

성이 확보되어 있었기 때문에 같은 주성분을 함유하고 있는 제네릭 의약품의 경우에 지나치게 많은 피험자는 비용 뿐만 아니라 윤리적으로 바람직하지 못한 상황일 수 있다.

이런 배경으로 우리나라 식품의약품안전처(Ministry of Food and Drug Safety; MFDS)에서도 2013년 의약품동등성시험기준에 다음과 같이 고변동성 제제와 관련한 새로운 규정을 추가하였다.

제17조의 3항 제2항에도 불구하고 3기 또는 4기 반복교차시험 결과 대조약 C_{max} 의 피험자 개체 내 변동계수[주1]가 30% 이상인 경우, 다음 각 호를 모두 만족하는 경우에 동등으로 판정한다. 단, 이 고시 제2조 제10호에 해당하는 성분은 제외한다.

1. AUC_t 는 로그변환하여 통계처리 하였을 때, 로그변환한 평균치 차의 90%신뢰구간이 $\log 0.8$ 에서 $\log 1.25$ 이내이어야 한다.
2. C_{max} 는 로그변환하여 통계처리 하였을 때, 로그변환한 평균치 차가 $\log 0.8$ 에서 $\log 1.25$ 이내이어야 하고, 로그변환한 평균치 차의 90% 신뢰구간은 다음의 식에 따라 계산되는 범위를 만족해야 한다. 다만, 변동계수 값이 50% 이상일 때에는 $\log 0.6984$ 에서 $\log 1.4319$ 이내이어야 한다.

<변동계수가 30%이상일 때 C_{max} 의 로그변환한 평균치 차의 90% 신뢰구간 범위>

[상한치, 하한치] = $\exp[\pm 0.760 \times (\text{로그변환 된 대조약 값의 개체 내 표준편차})]$

즉, 오지지널 의약품인 대조제제의 피험자내 변동성이 30% 이상일 경우 AUC_t 에서는 기존과 동일한 기준이 적용되지만 C_{max} 에 대해서는 피험자내 변동성이 커짐에 따라 생동성 허용구간을 확장하여 좁으로써, 피험자 수 증가에 대한 부담을 감소시켰다고 볼 수 있다. 단, 확장된 생동성 구간을 적용시키기 위해서는 C_{max} 에 대한 대조제제의 피험자 내 변동계수가 30%임을 입증하여야 하므로, 대조제제의 피험자 내 변동계수를 계산할 수 있는 3기간 이상의 고차 교차설계를 적용하여야 한다.

고변동성 제제의 생동성 입증을 위해 3기간 이상의 고차 교차설계법 중 고려해볼 수 있는 설계법은 2×3 , 2×4 혹은 3×3 교차설계법이다. 2×3 혹은 2×4 교차설계법에 기초한 생동성 평가는 최근 Noh와 Park (2013)에 의해서 논의가 되었지만 3×3 교차설계법은 아직 논의된 바가 없다. 3×3 교차설계법은 4기간까지 투여되는 것이 윤리적으로 조심스러운 제제 특성을 가지고 있는 경우 2×4 교차설계법을 대신하여 사용될 수 있고, 2×3 교차설계법에 비해서는 조금 더 높은 검정력을 보여줄 수 있다는 장점이 있을 수 있다.

3×3 교차설계법은 일반화 선형모형 이론을 통해 분석될 수 있지만, 본 연구에서는 두 제제에 대한 3×3 교차설계의 다양한 설계 가운데 최적의 설계를 선택하는 과정과 MFDS의 의약품동등성기준에서 요구하고 있는 형식의 분산분석표 도출 및 고변동성 제제와 관련된 새로운 기준 적용에 대해서 함께 논의한다. 또한, 최적설계로 결정한 3×3 교차설계법을 사례를 통해 적용하여 MFDS의 의약품동등성시험기준(2013)에 따라 생동성 평가를 진행하고 그 의미를 설명한다.

2. 3×3 교차설계법

3×3 교차설계법은 3개의 순서, 3개의 기간이 있으며, 각 피험자는 각 순서에 랜덤하게 할당되고, 할당된 순서에 해당하는 배열순서에 따라 세 기간에 걸쳐 대조제제와 시험제제를 투여 받는다. 3×3 교차설계법의 특징은 각 순서에 대조제제(R)와 시험제제(T)를 동일한 숫자로 반복할 수 없기 때문에 시험자의 의도와 제제의 특성을 반영하여 다양하게 만들어질 수 있게 된다. Table 2.1은 각 순서에 대조제제를 두 번씩 반복하는 설계를 사용한 예이다.

Table 2.1. An example of 3×3 crossover design

	Period					
		1		2		3
Sequence	1	<i>R</i>		<i>R</i>		<i>T</i>
	2	<i>R</i>	Washout	<i>T</i>	Washout	<i>R</i>
	3	<i>T</i>		<i>R</i>		<i>R</i>

3×3 교차설계법을 활용한 생동성 통계모형은 다음과 같이 표현할 수 있다 (Chow와 Liu, 2008).

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

$$S_{ik} \sim \text{iid } N(0, \sigma_s^2), \epsilon_{ijk} \sim \text{iid } N(0, \sigma_e^2), i = 1, \dots, n_k, j = 1, 2, 3, k = 1, 2, 3,$$

Y_{ijk} 는 k 번째 순서에 랜덤하게 할당된 i 번째 피험자의 j 번째 기간에 대한 로그변환 된 생체이용률 값이며, μ 는 전체 평균, G_k 는 k 번째 순서효과, P_j 는 j 번째 기간효과, $F_{(j,k)}$ 는 j 번째 기간, k 번째 순서에 할당된 제제효과로 각 9개의 (j, k) 에 할당된 제제에 따라 대조제제(R)가 할당되면 F_R , 시험제제(T)가 할당되면 F_T 의 값을 가진다. 즉,

$$F_{(j,k)} = \begin{cases} F_R, & (j, k) = (1, 1), (2, 1), (1, 2), (3, 2), (2, 3), (3, 3), \\ F_T, & (j, k) = (3, 1), (2, 2), (1, 3) \end{cases}$$

이 된다. 또한 모형 (2.1)은 다음과 같은 제약 조건을 만족한다.

$$\sum_{k=1}^3 G_k = 0, \quad \sum_{j=1}^3 P_j = 0, \quad \sum_{j=1}^3 \sum_{k=1}^3 F_{(j,k)} = 0. \tag{2.2}$$

또한, S_{ik} 는 k 번째 순서의 i 번째 피험자에게 관측되는 피험자변동성을 나타내는 확률변수, ϵ_{ijk} 는 j 번째 기간, k 번째 순서에 할당된 i 번째 피험자의 제제 변동성을 나타내는 확률변수이다. S_{ik} 와 ϵ_{ijk} 는 서로 독립임을 가정하며, σ_s^2 은 피험자 간 변동성을, σ_e^2 은 피험자 내 변동성을 의미한다.

3×3 교차설계법을 활용한 생동성 평가에서는 대조제제와 시험제제의 투여횟수와 배열순서에 따라 다양한 설계법이 가능한 만큼 적절한 기준을 설정하여 최적의 설계법을 결정해야 한다.

2.1. 최적설계법 탐색

3×3 교차설계법의 최적설계를 탐색함에 있어 제제효과 추정량을 최소제곱추정량으로 하여 다음과 같은 기준을 둔다.

1. 시험제제의 총 투여횟수가 대조제제에 비해 많은 경우는 제외한다.
2. 한 기간이나 한 순서에 모두 같은 제제가 배열되는 경우는 제외한다.

기준 1을 두는 이유는 3×3 교차설계법에서는 두 제제의 투여횟수를 일치시킬 수 없기 때문에 시험제제가 더 많거나 대조제제가 더 많을 수밖에 없다. 따라서 아직 승인되지 않은 시험제제를 피험자 보호를 위해 적게 노출시키는 것이 윤리적으로 바람직하다.

기준 2는 제제효과 추정량 $\hat{F} = \hat{F}_T - \hat{F}_R$ 에서 $\bar{Y}_{.jk}$ 의 계수가 0이 되는 경우, 또는 \hat{F}_R 를 구성하는 $\bar{Y}_{.jk}$ 가 서로 다른 부호를 갖거나 \hat{F}_T 를 구성하는 $\bar{Y}_{.jk}$ 가 서로 다른 부호를 갖지 않게 하기 위함이다. 예를 들

Table 2.2. Total available number of administration for each formulation

	Reference	Test	Total
1.	8	1	9
2.	7	2	9
3.	6	3	9
4.	5	4	9
5.	4	5	9
6.	3	6	9
7.	2	7	9
8.	1	8	9

어, 아래와 같은 설계들은 기준 2에 의해 최적설계에서 제외되는 설계들이다. 괄호 안은 제제효과의 추정량, $\hat{F} = \hat{F}_T - \hat{F}_R$ 이 불편성을 확보하게 되는 $\bar{Y}_{.jk}$ 계수이다.

Sequence	Period			Sequence	Period		
	1	2	3		1	2	3
1	$R(-\frac{1}{4})$	$T(\frac{1}{4})$	$R(0)$	1	$R(\frac{3}{40})$	$T(\frac{12}{40})$	$R(-\frac{15}{40})$
2	$T(\frac{2}{4})$	$R(-\frac{2}{4})$	$R(0)$	2	$R(-\frac{6}{40})$	$T(\frac{3}{40})$	$T(\frac{3}{40})$
3	$R(-\frac{1}{4})$	$T(\frac{1}{4})$	$R(0)$	3	$R(\frac{3}{40})$	$R(-\frac{15}{40})$	$T(-\frac{12}{40})$

3×3 교차설계법에서 대조제제와 시험제제를 배치할 수 있는 방법은 총 투여되는 횟수를 기준으로 할 때 Table 2.2와 같이 총 8가지 조합을 고려할 수 있다.

위 기준을 활용하면 Table 2.2의 5, 6, 7, 8번의 경우는 시험제제의 투여횟수가 대조제제를 초과하므로 기준1에 의해 최적설계법을 찾는 후보군에서 제외한다. 또한 1, 2번의 경우는 기준2에 해당하는 배열 순서를 피할 수 없으므로 제외한다. 결국 3, 4번의 경우가 기준에 적합한 최적 설계법의 후보군이다. 이렇게 선정된 후보군에 있는 설계법 중 제제효과의 추정량이 최소의 분산을 갖는 설계법을 최적설계법으로 결정한다.

Table 2.2의 3번 설계(R 이 6번, T 가 3번 투여되는 설계)의 일반형은 $RRT/RTR/TRR$ 이고, 4번 설계(R 이 5번, T 가 4번 투여되는 설계)의 일반형은 $RTR/TRT/RTR$ 이다. 아래 설계의 괄호안의 값은 제제효과의 불편추정량을 계산할 수 있는 직교대비값을 의미한다.

Sequence	Period			Sequence	Period		
	1	2	3		1	2	3
1	$R(-\frac{1}{6})$	$R(-\frac{1}{6})$	$T(\frac{2}{6})$	1	$R(-\frac{1}{8})$	$T(\frac{2}{8})$	$R(-\frac{1}{8})$
2	$R(-\frac{1}{6})$	$T(\frac{2}{6})$	$R(-\frac{1}{6})$	2	$T(\frac{2}{8})$	$R(-\frac{4}{8})$	$T(\frac{2}{8})$
3	$T(\frac{2}{6})$	$R(-\frac{1}{6})$	$R(-\frac{1}{6})$	3	$R(-\frac{1}{8})$	$T(\frac{2}{8})$	$R(-\frac{1}{8})$

Table 2.2의 3번과 4번의 경우 제제효과 추정량의 분산을 정리하면 다음과 같으며, $\hat{F} = \hat{F}_T - \hat{F}_R$ 의 분산이 최소인 3×3 교차설계의 최적설계법은 R 이 6번 T 가 3번 투여되는 설계가 된다.

Reference	Test	$\text{Var}(\hat{F}_T - \hat{F}_R)$
6	3	$\frac{\sigma_e^2}{2n}$
5	4	$\frac{9\sigma_e^2}{16n}$

Table 2.3. Contrasts sum of square and coefficient of $\bar{Y}_{.jk}$ for 3×3 crossover design

Sequence	SS_{LG_1}			SS_{LG_2}			SS_{LP_1}			SS_{LP_2}			SS_{LD}		
	Period			Period			Period			Period			Period		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	0	-1	-1	2	1	1	-2
2	-1	-1	-1	-1	-1	-1	1	-1	0	-1	-1	2	1	-2	1
3	0	0	0	2	2	2	1	-1	0	-1	-1	2	-2	1	1

이상의 논의를 바탕으로 3×3 교차설계의 최적설계는 Table 2.1과 같다.

2.2. 최적설계의 통계적 추론

현재 MFDS의 의약품동등성시험규정에 의하면 생동성 시험의 승인을 위해 모형 (2.1)의 분산분석표, 순서 및 기간효과 등 고정효과 추정량과 제제효과의 신뢰구간 추정을 요구하고 있어 관련 통계적 추론이 필요하다. 모형 (2.1)의 분산분석표는 다음과 같이 유도할 수 있다. 설계방법은 다르지만 Noh와 Park (2013)의 추론과정과 유사하게 진행되므로 이를 참고할 수 있다.

전체 $3(n_1 + n_2 + n_3)$ 개의 관찰값들에 대한 총 변동은 식 (2.3)과 같이 분해할 수 있다.

$$\begin{aligned}
 SS_{total} &= \sum_{k=1}^3 \sum_{i=1}^{n_k} \sum_{j=1}^3 (Y_{ijk} - \bar{Y}_{...})^2 = \sum_{k=1}^3 \sum_{i=1}^{n_k} \sum_{j=1}^3 (Y_{ijk} - \bar{Y}_{i.k} + \bar{Y}_{i.k} - \bar{Y}_{...})^2 \\
 &= \sum_{k=1}^3 \sum_{i=1}^{n_k} \sum_{j=1}^3 (Y_{ijk} - \bar{Y}_{i.k})^2 + 3 \sum_{k=1}^3 \sum_{i=1}^{n_k} (\bar{Y}_{i.k} - \bar{Y}_{...})^2 \\
 &= SS_{within} + SS_{between}. \tag{2.3}
 \end{aligned}$$

SS_{within} 은 피험자 내 변동으로 기간에 따른 변동인 SS_{period} , 제제에 따른 변동인 SS_{drug} , 피험자 내 잔차인 SS_{intra} 로 분해되며, $SS_{between}$ 은 피험자 간 변동으로 순서에 따른 변동인 $SS_{sequence}$, 피험자 간 잔차인 SS_{inter} 로 분해된다.

각 고정효과들의 변동은 9개의 $\bar{Y}_{.jk}$ ($j = 1, 2, 3, k = 1, 2, 3$)들로 이루어진 몇 개의 직교하는 대비들로 구할 수 있다. $SS_{sequence}, SS_{period}, SS_{drug}$ 는 Table 2.3의 직교대비(orthogonal contrast)를 통해서 아래와 같이 계산된다.

$$\begin{aligned}
 SS_{sequence} &= SS_{LG_1} + SS_{LG_2} \\
 &= \frac{n_1 n_2}{3(n_1 + n_2)} (\bar{Y}_{.11} + \bar{Y}_{.21} + \bar{Y}_{.31} - \bar{Y}_{.12} - \bar{Y}_{.22} - \bar{Y}_{.32})^2 \\
 &\quad + \frac{n_1 n_2 n_3}{3(n_2 n_3 + n_1 n_3 + 4n_1 n_2)} (-\bar{Y}_{.11} - \bar{Y}_{.21} - \bar{Y}_{.31} - \bar{Y}_{.12} - \bar{Y}_{.22} - \bar{Y}_{.32} + 2\bar{Y}_{.12} + 2\bar{Y}_{.23} + 2\bar{Y}_{.33})^2, \\
 SS_{period} &= SS_{LP_1} + SS_{LP_2} \\
 &= \frac{n_1 n_2 n_3}{6(n_2 n_3 + n_1 n_3 + n_1 n_2)} 3 (\bar{Y}_{.11} + \bar{Y}_{.12} + \bar{Y}_{.13} - \bar{Y}_{.21} - \bar{Y}_{.22} - \bar{Y}_{.23})^2 \\
 &\quad + (-\bar{Y}_{.11} - \bar{Y}_{.21} - \bar{Y}_{.12} - \bar{Y}_{.22} - \bar{Y}_{.13} - \bar{Y}_{.23} + 2\bar{Y}_{.31} + 2\bar{Y}_{.32} + 2\bar{Y}_{.33})^2, \\
 SS_{drug} &= \frac{n_1 n_2 n_3}{6(n_2 n_3 + n_1 n_3 + n_1 n_2)} (\bar{Y}_{.11} + \bar{Y}_{.21} - 2\bar{Y}_{.31} + \bar{Y}_{.12} - 2\bar{Y}_{.22} + \bar{Y}_{.32} - 2\bar{Y}_{.13} + \bar{Y}_{.23} + \bar{Y}_{.33})^2.
 \end{aligned}$$

Table 2.4. Analysis of variance table for 3×3 crossover design

	Sources	Degress of freedom	Mean squares	Expected mean squares
Between-subjects	Sequence effect	2	$MS_{sequence}$	$\sigma_e^2 + 3\sigma_s^2 + \frac{3n_1n_2}{2(n_1+n_2)}(G_1 - G_2)^2$ $+ \frac{3n_1n_2n_3}{2(n_2n_3+n_1n_3+4n_1n_2)}(G_1 + G_2 - 2G_3)^2$
	Inter-subjects	$n_1 + n_2 + n_3 - 3$	MS_{inter}	$\sigma_e^2 + 3\sigma_s^2$
Within-subjects	Drug effect	1	MS_{drug}	$\sigma_e^2 + \frac{6n_1n_2n_3}{n_2n_3+n_1n_3+n_1n_2}(F_R - F_T)^2$
	Period effect	2	MS_{period}	$\sigma_s^2 + \frac{3n_1n_2n_3}{4(n_2n_3+n_1n_3+n_1n_2)}$ $\{3(P_1 - P_2)^2 + (P_1 + P_2 - 2P_3)^2\}$
	Intra-subjects	$2(n_1 + n_2 + n_3) - 3$	MS_{intra}	σ_e^2
	Total	$3(n_1 + n_2 + n_3) - 1$		

피험자 간 잔차는 $SS_{inter} = SS_{between} - SS_{sequence}$ 로 계산하고, 피험자 내 잔차는 $SS_{intra} = SS_{within} - SS_{period} - SS_{drug}$ 로 계산한다.

위 내용을 분산분석표로 정리하면 Table 2.4와 같고, 평균 제곱합의 기댓값을 보면 각 효과들이 다른 효과들과 교락되지 않고 추론될 수 있음을 알 수 있다.

생동성 평가의 기준이 되는 모수는 두 제제의 로그변환 된 평균차이를 나타내는 $F = F_T - F_R$ 으로 F 의 최소제곱추정량 \hat{F} 를 추정하면 (2.4)와 같다.

$$\begin{aligned}\hat{F} &= \hat{F}_T - \hat{F}_R \\ &= \frac{1}{6} (2\bar{Y}_{.31} + 2\bar{Y}_{.22} + 2\bar{Y}_{.13}) - \frac{1}{6} (\bar{Y}_{.11} + \bar{Y}_{.21} + \bar{Y}_{.12} + \bar{Y}_{.32} + \bar{Y}_{.23} + \bar{Y}_{.33})\end{aligned}\quad (2.4)$$

\hat{F} 의 평균과 분산은 (2.5)과 같고, σ_e^2 은 MS_{intra} 로 추정하여 $\widehat{\text{Var}}(\hat{F})$ 를 구할 수 있다.

$$E(\hat{F}) = F_T - F_R, \quad \text{Var}(\hat{F}) = \frac{\sigma_e^2}{6} \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} + \frac{1}{n_3} \right)\quad (2.5)$$

또한,

$$\frac{\hat{F} - (F_T - F_R)}{\sqrt{\widehat{\text{Var}}(\hat{F})}} \sim t(2(n_1 + n_2 + n_3) - 3)$$

이므로 \hat{F} 의 90% 신뢰구간은 다음과 같다.

$$\begin{aligned}\left(\hat{F} - t(0.05, 2(n_1 + n_2 + n_3) - 3) \sqrt{\frac{MS_{intra}}{6} \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} + \frac{1}{n_3} \right)}, \right. \\ \left. \hat{F} + t(0.05, 2(n_1 + n_2 + n_3) - 3) \sqrt{\frac{MS_{intra}}{6} \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} + \frac{1}{n_3} \right)} \right),\end{aligned}\quad (2.6)$$

여기서 $t(0.05, 2(n_1 + n_2 + n_3) - 3)$ 은 자유도가 $2(n_1 + n_2 + n_3) - 3$ 인 분포 t 의 95번째 백분위수이며, 신뢰구간이 의약품동등성시험기준에서 규정된 생동성 구간에 포함되면 두 제제의 생동성이 입증된다.

1장 서론에서 설명한 바와 같이 최근 고변동성 제제의 특허가 많이 만료되어 이를 위한 생동성 시험이 많이 이루어지고 있다. MFDS에서는 구체적으로 고변동성 제제의 정의를 생동성 시험에서 3주기 혹은 4주기 반복교차 시험결과 C_{max} 의 피험자내 변동계수가 30% 이상인 것으로 하고 이를 위한 생동성 시험기준을 2013년 변경하였다. 오리지널 제제의 변동성이 큰 경우 시험제제 역시 오리지널 제제의 변동

Table 2.5. Total subject number of 3×3 crossover design

CV	F	3×3	
		원래한계	확장한계
0.3	0	24	24
	0.05	30	30
	0.1	54	54
	0.15	153	153
0.35	0	33	24
	0.05	39	27
	0.1	72	45
	0.15	201	93
0.4	0	39	24
	0.05	48	27
	0.1	93	39
	0.15	258	69
0.45	0	51	24
	0.05	60	27
	0.1	114	36
	0.15	321	57
0.5	0	60	24
	0.05	72	27
	0.1	138	33
	0.15	390	51

성을 함께 반영하겠다는 의미이다. 이 규정을 적용하기 위해 대조제제를 복용한 피험자들로부터 생체이용률 C_{max} 의 피험자내 변동성을 측정해야 한다. 이렇게 대조제제의 피험자내 변동성을 측정하려면 대조제제의 반복이 필요하게 되는데, 이것이 3기간 이상의 교차설계와 각 군에서 2번 이상의 대조제제의 반복이 필요한 이유이다.

Table 2.1의 3×3 교차설계법을 기준으로 대조제제에 대한 피험자 내 변동성을 추정할 수 있다.

$$\hat{\sigma}_{WR}^2 = \frac{1}{2(n_1 + n_2 + n_3 - 3)} \sum_{k=1}^3 \sum_{i=1}^{n_k} (d_{ikR} - \bar{d}_{kR})^2. \tag{2.7}$$

식 (2.7)에서 d_{ikR} 는 k 번째 순서에 할당된 i 번째 피험자의 대조제제 R 에 대한 로그 변환된 생체이용률 차이이다. 즉, $d_{i1R} = y_{i11} - y_{i21}$, $d_{i2R} = y_{i12} - y_{i32}$, $d_{i3R} = y_{i23} - y_{i33}$ 이고, $\bar{d}_{kR} = (1/n_k) \sum_{i=1}^{n_k} d_{ikR}$ 이다.

식 (2.7)과 같이 계산된 피험자내 변동성을 이용해서 MFDS 의약품동등성시험기준 제17조 3항과 같이 생동성시험 기준을 설정할 수 있다. 즉, 식 (2.6)에서 계산된 제제간의 90% 신뢰구간을 대조제제의 변동성을 반영하여 계산된 생동성 구간 [상한치, 하한치] = $[-0.760 \times \hat{\sigma}_{WR}, 0.760 \times \hat{\sigma}_{WR}]$ 과 비교하여 제제간의 동등성을 판단할 수 있다.

2.3. 3×3 교차설계법 설계에서 피험자수 계산

Table 3.1은 3×3 교차설계법으로 생동성 시험을 설계할 경우 피험자 수를 계산한 것이다. 피험자 수 계산은 각 군에 동일한 피험자 n 을 할당하고, Park (2007)이 설명한 방법과 식 (2.6)을 참고하여 다음과

같은 검정력 함수를 활용하였다.

$$1 - \beta = P \left\{ T_{(6n-3)} < \frac{\Delta^* - F}{\sqrt{(1/2n)\hat{\sigma}_e}} - t(\alpha, 6n-3) \right\} - \left\{ T_{(6n-3)} < t(\alpha, 6n-3) - \frac{\Delta^* + F}{\sqrt{(1/2n)\hat{\sigma}_e}} \right\}, \quad (2.8)$$

여기서 Δ^* 는 MFDS에서 규정한 생동성 기준이다.

고변동성 제제의 생동성 평가를 위해 3×3 교차설계법을 활용할 때 주의할 점은 생체이용률 AUC_t 와 C_{max} 의 생동성 기준이 달리 적용된다는 점이다. 즉, Δ^* 는 변동계수가 30%이하인 경우 생동성 기준은 (-0.2231, 0.2231)이고, 변동계수가 30% 이상인 경우 생체이용률 C_{max} 에 한해서 확장된 생동성 기준 $[-0.760 \times \hat{\sigma}_{WR}, 0.760 \times \hat{\sigma}_{WR}]$ 이다.

일반적으로 생체이용률 특성상 AUC_t 보다 C_{max} 의 변동성이 커서 C_{max} 의 변동성이 피험자 크기를 결정하는데 사용되지만 이론상으로는 AUC_t 와 C_{max} 의 변동성 중 큰 값으로 사용한다. Table 2.5는 대조 제제와 시험제제의 피험자 내 변동성이 동일하다는 가정 하에 식 (2.8)을 활용하여 피험자 수를 산출한 것이다. 유의수준(α) 5%, 검정력($1 - \beta$) 80% 하에서, 로그변환 된 각 제제의 평균의 차이인 F 는 0부터 0.15까지 0.05의 간격을 적용하였고, CV는 0.3부터 0.5까지 0.05의 간격을 적용하였다.

Table 2.5을 보면 3×3 교차설계법으로 MFDS 의약품동등성시험기준 17조 3항을 적용했을 때 피험자 수가 얼마나 줄어드는지 확인할 수 있다. 예를 들어, CV가 35%로 예상되는 고변동성 제제에 확장된 생동성 기준을 적용하면 기존 생동성 기준을 적용했을 때 보다 피험자 수가 40%에서 87%까지 줄어드는 것을 확인할 수 있다.

3. 사례

고변동성 제제에 대한 새로운 규정이 생동성시험에 어떻게 적용될 수 있을지 Table 2.3의 3×3 교차설계법에 기초한 생동성 시험 사례를 고찰한다. 우리나라에서는 아직 3×3 교차설계법으로 이루어진 생동성시험은 드물고, 또한 관련 시험자료가 공개되지 않아 예시를 위한 가상적인 자료를 만들었다. 자료는 고변동성 제제의 특성을 만족시키기 위해 C_{max} 에 대한 피험자 내 변동이 30%가 넘도록 만들어 졌으며, 피험자 수는 군당 10명씩, 총 30명으로 Table 3.1과 같이 구성하였다. 사례 자료는 SAS로 프로그램하여 분석하였으며, 프로그램은 첫 번째 저자에게 요청하면 제공할 수 있다.

Table 3.2와 Table 3.3에는 Table 2.5와 같은 분산분석표를 계산하였고, 식 (2.7)에 의해서 두 제제의 90% 신뢰구간도 제시하였다. 각 생체이용률의 90% 신뢰구간은 AUC_t 가 (-0.0265, 0.1414), C_{max} 가 (-0.1135, 0.2507)로 AUC_t 는 생동성 기준 (-0.2231, 0.2231)에 포함되지만 C_{max} 는 생동성 기준을 초과하기 때문에 기존의 생동성 판정 기준을 통해서는 제제간의 생동성을 입증할 수 없다. 하지만 새롭게 도입된 규정에 의하면 C_{max} 의 경우 확장된 생동성 기준을 적용할 수 있다.

C_{max} 의 경우 대대조제제의 피험자 내 변동성을 식 (2.8)에 의해 계산해 보면 $\hat{\sigma}_{WR}^2 = 0.185722$ 이며, 변동계수는 약 45.18%로 30% 이상이다. 의약품동등성시험기준 제17조 3항에 의해 이때의 한계를 구해보면 약 (-0.3275, 0.3275)이므로 두 제제간의 동등성을 입증할 수 있다. 참고로 분산분석표를 보면 AUC_t 와 C_{max} 모두에서 순서효과, 제제효과, 기간효과와 같은 고정효과들이 통계적으로 유의하지 않아 두 제제의 생동성 입증 추론 결과가 적절함을 알 수 있다.

4. 결론

MFDS는 최근 특허가 만료되는 오리지널 의약품들의 특성이 변동성이 높은 제제가 많다는 경향을 반영하여 고변동성 제제의 생동성 시험을 위해 의약품동등성시험규정을 2013년에 개정하였다. 개정된 내용

Table 3.1. AUC_t and C_{max} data of 3×3 crossover design

AUC_t	Period			C_{max}	Period				
	1	2	3		1	2	3		
Sequence 1	1	90.39	104.21	83.40	Sequence 1	1	3.68	3.80	3.01
	2	82.83	90.82	76.89		2	4.53	2.97	3.78
	3	75.21	94.20	70.29		3	7.82	12.93	6.90
	4	96.64	75.50	88.75		4	7.46	2.70	6.55
	5	104.21	75.74	95.20		5	3.28	3.80	2.65
	6	88.72	70.54	81.97		6	5.10	6.39	4.31
	7	99.60	142.10	91.28		7	3.25	5.42	2.63
	8	107.43	101.17	97.93		8	2.69	5.38	2.13
	9	113.19	84.72	102.81		9	5.07	2.76	4.28
	10	52.77	96.90	50.55		10	7.54	5.90	6.63
Sequence 2	11	101.68	95.20	92.36	Sequence 2	11	5.31	3.12	2.94
	12	99.99	83.76	81.77		12	4.95	2.38	7.79
	13	168.48	86.66	62.95		13	7.86	12.01	2.15
	14	76.52	70.54	83.96		14	5.25	2.13	6.48
	15	115.93	70.75	98.52		15	4.55	3.12	1.63
	16	55.43	66.22	122.12		16	4.89	5.53	2.61
	17	150.22	127.04	118.74		17	14.03	4.60	3.53
	18	66.26	92.61	90.99		18	5.60	4.57	2.44
	19	79.99	78.52	87.15		19	11.32	2.19	2.58
	20	90.19	88.97	56.63		20	2.61	5.06	2.97
Sequence 3	21	93.05	116.14	87.76	Sequence 3	21	4.51	3.34	11.97
	22	91.61	82.57	108.09		22	4.17	2.30	7.29
	23	148.84	84.11	93.40		23	6.94	4.91	2.91
	24	71.42	71.89	76.95		24	4.44	3.07	4.33
	25	105.12	105.25	69.40		25	3.80	4.60	1.63
	26	52.92	79.37	86.06		26	4.11	3.34	4.37
	27	133.78	92.57	79.42		27	13.14	4.42	4.81
	28	62.48	112.94	81.81		28	4.78	8.75	6.21
	29	74.44	148.84	78.82		29	10.37	4.10	9.99
	30	83.22	71.32	67.00		30	2.06	7.15	7.87

Table 3.2. AUC_t results of 3×3 crossover design

		\hat{F}	$\widehat{Var}(\hat{F})$	90% confidence interval		
		-0.0575	0.0502 ²	(-0.0265, 0.1414)		
	Sources	DF	Sum of squares	Mean squares	F-statistics	Pr(> F)
Between-subjects	Sequence	2	0.0034	0.0017	0.03	0.9672
	Inter-subjects	27	1.9343	0.0716		
Within-subjects	Drug	1	0.0660	0.0660	1.31	0.2571
	Period	2	0.1076	0.0538		
	Intra-subjects	57	2.8733	0.0504		
Total		89	4.9846			

중 통계적으로 의미 있는 부분은 두 제제간의 생동성을 입증하기 위해 C_{max} 의 확장된 생동성 기준구간을 사용하기 위해 3기간 이상의 고차 교차설계법을 사용하여야 한다는 것이다.

Table 3.3. C_{\max} results of 3×3 crossover design

		\hat{F}	$\widehat{\text{Var}}(\hat{F})$	90% confidence interval		
		-0.0686	0.1089 ²	(-0.1135, 0.2507)		
	Sources	DF	Sum of squares	Mean squares	F -statistics	$\text{Pr}(> F)$
Between-subjects	Sequence	2	0.3865	0.1932	0.81	0.4481
	Inter-subjects	27	6.7801	0.2511		
Within-subjects	Drug	1	0.0942	0.0942	0.40	0.5313
	Period	2	1.1357	0.5679	2.39	0.1005
	Intra-subjects	57	13.5264	0.2373		
Total		89	21.9237			

본 연구에서는 고변동성 제제의 생동성 시험에 가장 많이 활용되고 있는 2×4 교차설계법이 윤리적인 이유로 3기간이 선호될 경우 사용할 수 있는 3×3 교차설계법의 최적설계로 제안하고, 이와 관련된 통계적 추론과정을 설명하였다. 3×3 교차설계법을 이용한 통계분석은 일반화 선형이론을 통해 분석될 수 있지만, 본 연구에서는 최적설계가 만들어지는 과정과 일반화 선형이론에서 제공하고 있지 않지만 MFDS에서 요구하고 있는 형식의 분산분석표 유도, 피험자 수 계산, 사례를 통해서 확장된 생동성 기준을 적용하는 방법을 논의하였다. 특히 본 연구논문에서 유도된 분산분석표는 만약 생동성 시험에서 제제간의 생동성 평가에 실패하였을 때 사용되는 추가시험의 일관성 검증에서도 꼭 필요한 내용이라 그 의미가 있다고 할 것이다.

본 연구는 통계기반이 약한 제약산업에서 고변동성 제네릭 의약품 개발할 때 보다 구체적인 도움을 주기 위해 그 내용과 과정을 비교적 상세하게 기술하였으며, 향후 다양한 고차 교차설계법 설계를 고려할 때 바람직한 기준이 되기를 기대한다.

References

- Benet, L. (2006). Why highly variable drugs are safer, *Meeting of FDA Committee for Pharmaceutical Science*, <http://www.fda.gov/ohrms/dockets/ac/06/slides/2006-4241s22.ppt>.
- Blume, H. H. (2010). Highly variable drugs: reasons for high variability and solutions to overcome BE problems, *Modern Strategies for the Development of Genetic Drugs 20th AGAH Annual Meeting*, Hamburg. http://www.agah.info/uploads/media/Blume_H_BE-HVD_AGAH_2010_Einleitung1.pdf
- Chow, S. C. and Liu, L. (2008). *Design and Analysis of Bioavailability and Bioequivalence Studies*, 3th edition, Chapman & Hall.
- Jeong, G. and Park, S. (2011). On Evaluation of Bioequivalence for Highly Variable Drugs, *The Korean Journal of Applied Statistics*, **24**, 1055–1076.
- Ministry of Food and Drug Safety (2013). *Regulations of Bioequivalence Trials*, Publication No.2013-237.
- Noh, S. and Park, S. (2013). Some statistical considerations on 2k crossover designs for bioequivalence trial, *The Korean Journal of Applied Statistics*, **26**, 675–686.
- Park, S. (2014). *Statistical Methods for Bioequivalence Trials*, Free Academy.
- Park, S. (2007). On sample size determination of bioequivalence trials, *Journal of Korean Data & Information Science Society*, **18**, 365–373.

고변동성 제제의 생물학적 동등성 평가에서 3×3 교차설계법 연구

박지애^a · 박상규^{a,1}

^a중앙대학교 응용통계학과

(2015년 10월 1일 접수, 2016년 1월 4일 수정, 2016년 1월 15일 채택)

요약

최근 식품의약품안전처는 의약품동등성시험기준에 고변동성 제제의 생물학적 동등성(생동성) 평가 기준을 넓혀주는 새로운 규정을 추가하면서 고차 교차설계법을 활용하여 생동성 평가를 하는 논의가 확대되고 있다. 확장된 생동성 기준을 적용하기 위해서는 3기간 이상의 교차설계법이 적용되어야 하지만 아직 관련된 논의가 많이 이루어지지 않고 있다. 본 연구에서는 3×3 교차설계법에 기초한 생동성 평가의 통계적 추론과정을 제시하고 논의한다. 또한 사례를 통해 3×3 교차설계법을 활용한 생동성 평가를 식품의약품안전처 의약품동등성시험기준에 따라 진행하고 그 의미를 논의한다.

주요용어: 생물학적 동등성, 고변동성 제제, 제네릭 의약품, 오리지널 의약품, 3×3 교차설계

이 논문은 2013년도 중앙대학교 연구장학기금 지원에 의한 것임.

¹교신저자: (156-756) 서울시 동작구 흑석로 84, 중앙대학교 응용통계학과. E-mail: spark@cau.ac.kr