

## 잔류효과를 고려하는 생물학적 동등성 평가에서 $2 \times 3$ 이중 설계의 활용<sup>†</sup>

우화형<sup>1</sup> · 박상규<sup>2</sup> · 고우리<sup>3</sup>

<sup>1</sup>중앙대학교 다빈치교양대학 · <sup>2</sup>중앙대학교 응용통계학과 · <sup>3</sup>중앙대학교 대학원 통계학과

접수 2018년 10월 30일, 수정 2018년 11월 16일, 게재 확정 2018년 11월 16일

### 요약

두 제제의 동등성을 입증하는 생물학적 동등성 시험은 표준  $2 \times 2$  교차설계를 원칙으로 하고 있으나, 최근에는 제제 특성에 기인한 고변동성 때문에  $2 \times k$  고차 교차설계를 사용하는 경우가 많아지고 있다. 고차 교차설계는 고변동성 제제의 생동성 평가에도 의미가 있지만, 잔류효과가 존재할 때 이를 적절하게 고려할 수 있는 장점도 있다. 제제의 특성에 기인한 잔류효과의 고려가 필요할 때  $2 \times 3$  이중 설계는  $2 \times 4$  반복 설계에 비해서 두 제제간 생동성을 평가하는데 효과적일 수 있음을 논의하고 제시한다. 또한 사례를 통해 개정된 의약품동등성시험기준을 적용하면서 잔류효과를 포함하는 생동성 분석 평가 결과를 논의한다.

주요용어:  $2 \times 3$  이중 설계, 고변동성 제제, 생동성 평가, 잔류효과, 제네릭 의약품.

### 1. 서론

식품의약품안전처 (ministry of food and drug safety, MFDS) 의 약품동등성시험기준 (제2018-29호, 2018)에 따르면 생물학적 동등성(bioequivalence, 이하 생동성) 시험은 표준  $2 \times 2$  교차설계를 원칙으로 하며, 두 제제의 생체이용률 (AUCt와 Cmax)을 로그변환한 후 계산된 평균치 차의 90% 신뢰구간이 생동성 허용구간인 ( $\log 0.8$ ,  $\log 1.25$ ) 이내이면 두 제제의 동등성을 인정한다.

일반적으로  $2 \times 2$  교차설계법에 기반해서 제제간의 생동성을 평가할 때 실험과 제제의 특성을 반영하여 통계적 모형을 구축하게 되는데, 제제의 반감기 (half life) 등을 고려하여 잔류효과 (carryover effect)는 존재하지 않는 것을 기본적인 모형으로 활용한다. 잔류효과가 존재하지 않는 모형을 활용하는 첫 번째 이유는 일반적으로 제제의 특성을 감안하여 5배 이상의 반감기를 휴약기간 (washout period)으로 적용하는 생동성 시험에서 실제 잔류효과가 존재하지 않을 수 있고, 두 번째 이유는 잔류효과가 존재하면 제제의 효과를 통계적으로 추론할 수 없기 때문이다 (Chow와 Liu, 2008; Park, 2014).

$2 \times 2$  교차설계법을 기반으로 하는 제제간의 생동성 평가에서 잔류효과를 처리하는 문제는 Grizzle (1965)의 2단계 평가 방식 이후로 통계학자들을 중심으로 이론적 관심은 받아왔으나 충분한 반감기를 적용한다는 이유로 실무적으로는 논의가 외면 되어왔다. 하지만 최근 들어 제제의 특성에 따라 잔류효

<sup>†</sup> 이 연구는 2017 중앙대학교 대학원 연구조교 B 장학금이 지원되었음.

<sup>1</sup> (06974) 서울특별시 동작구 흑석로 84, 중앙대학교 다빈치교양대학, 강사.

<sup>2</sup> 고신저자: (06974) 서울특별시 동작구 흑석로 84, 중앙대학교 응용통계학과, 교수.

E-mail: spark@cau.ac.kr

<sup>3</sup> (06974) 서울특별시 동작구 흑석로 84, 중앙대학교 대학원 통계학과, 석사과정 대학원생.

과를 무조건적으로 존재하지 않는다고 가정하는 것보다 잔류효과를 적절하게 반영하는 통계적 모형을 활용해야 한다는 논의가 이루어지고 있다 (Ocana 등, 2015).

잔류효과를 생동성 평가 모형에서 고려하는 가장 자연스러운 방법은  $2 \times 3$  혹은  $2 \times 4$  등의 고차원 교차설계를 활용하는 것이다. 즉, 고차원 교차설계를 통해서 제제효과와 별개로 잔류효과를 평가할 수 있도록 하자는 것이다. 생동성 평가에 있어 고차원 교차설계를 활용할 경우 얻을 수 있는 또 다른 장점은 고변동성 제제의 확장된 생동성 구간을 이용할 수 있다는 것이다 (Jeong과 Park, 2011; Woo 등, 2017). 즉, MFDS의 의약품동등성시험기준에 제17조를 새롭게 추가하면서 고차원 교차설계로 생동성 시험을 진행할 경우 생체이용률 중 Cmax에 확장된 생동성 기준 구간을 활용할 수 있게 해주는 것이다. 이렇게 고차원 교차설계가 제제간의 생동성 평가에 긍정적으로 인지되고 있는바 잔류효과까지 자연스럽게 고려할 수 있는 설계를 적극적으로 활용하는 것이 필요하다 하겠다.

고차원 교차설계 중 가장 많이 활용되고 있는  $2 \times 4$  교차설계 (이하  $2 \times 4$  반복 설계)는 각 개체에게 비교하는 두 제제를 두 번씩 반복해서 투여하므로 각 제제들의 변동성을 함께 측정할 수 있는 장점이 있지만, 4기간에 걸쳐 진행되기 때문에 개체들에게는 피로감을 줄 수 있는 단점이 있다 (Noh와 Park, 2013). 이에 기간을 하나 단축시킨  $2 \times 3$  교차설계 (이하  $2 \times 3$  이중 설계)가 보다 경제적이고 윤리적일 수 있다는 논문들이 제안되고 있다 (Park과 Park, 2016; Woo 등, 2017).

본 연구에서는 2절에서  $2 \times 3$  이중 설계를 활용할 경우 Woo 등 (2017)이 제시한 모형에 잔류효과를 추가하는 모형으로 확장하여 통계적 추론을 논의하고, 3절에서는  $2 \times 4$  반복 설계를 활용할 때 통계적 추론이 어려울 수 있음을, 제 4절에서는 사례를 통해  $2 \times 3$  이중 설계를 통한 평균 생동성 평가 결과를, 5장에서 연구결과의 의의를 제시한다.

## 2. $2 \times 3$ 이중 설계에서 통계적 추론

$2 \times 3$  이중 설계는 제제의 측면에서 봤을 때 시험제제와 대조제제가 투여 횟수에 있어서 균형을 이루고 있으며, 기간에 배치되는 순서에 따라 (TRR, RTT), (TRT, RTR) 또는 (TTR, RRT) 등으로 설계될 수 있다. 어떤 순서로 배치되더라도 제제간의 동등성 평가는 동일하게 이루어지기 때문에 Table 2.1과 같이 (TRR, RTT)의 경우로 평균 생동성을 추론한다.

Table 2.1  $2 \times 3$  dual design

| Sequence | Period |   |   |
|----------|--------|---|---|
|          | 1      | 2 | 3 |
| 1        | T      | R | R |
| 2        | R      | T | T |

Woo 등 (2017)에서 고려한 바와는 달리 일정 기간의 휴약기간에도 불구하고 제제에 대한 잔류효과가 존재하지 않는다는 가정을 적용하기 어려운 경우 Table 2.1의  $2 \times 3$  이중 설계에 대한 완전 통계 모형은 다음과 같다.

$$\begin{aligned} y_{ijk} &= \mu + g_k + S_{ik} + p_j + \pi_{(j,k)} + c_{(j-1,k)} + \varepsilon_{ijk}, \\ S_{ik} &\sim iidN(0, \sigma_S^2), \quad \varepsilon_{ijk} \sim iidN(0, \sigma_\varepsilon^2), \\ i &= 1, 2, \dots, n_k, \quad j = 1, 2, 3, \quad k = 1, 2, \end{aligned} \quad (2.1)$$

여기서  $y_{ijk}$ 는  $k$ 번째 순서,  $j$ 번째 기간에  $(j, k)$ 번째 제제를 투여한  $i$ 번째 개체에게서 얻은 생체이용률 값을 로그변환한 값이고,  $\mu$ 는 전체 평균,  $g_k$ 는  $k$ 번째 순서효과,  $p_j$ 는  $j$ 번째 기간효과,  $\pi_{(j,k)}$ 는  $(j, k)$ 번

째 제제효과,  $c_{j-1,k}$ 는  $(j-1, k)$ 번째 잔류효과이다. 순서효과, 기간효과, 제제효과, 잔류효과는 다음의 조건을 만족한다.

$$\sum_{k=1}^2 g_k = 0, \quad \sum_{j=1}^3 p_j = 0, \quad \sum_{k=1}^2 \sum_{j=1}^3 \pi_{(j,k)} = 0, \quad \sum_{k=1}^2 \sum_{j=2}^3 c_{(j-1,k)} = 0, \quad (2.2)$$

$$\pi_{(j,k)} = \begin{cases} \pi_T, & (j,k) = (1,1), (2,2), (3,2) \\ \pi_R, & (j,k) = (1,2), (2,1), (3,1), \end{cases} \quad c_{(j-1,k)} = \begin{cases} c_T, & (j-1,k) = (2,1), (3,2) \\ c_R, & (j-1,k) = (2,2), (3,1). \end{cases}$$

$S_{ik}$ 는  $k$ 번째 순서,  $i$ 번째 개체의 변동을 나타내는 확률변수이고,  $\varepsilon_{ijk}$ 는  $k$ 번째 순서,  $j$ 번째 기간,  $i$ 번째 개체 내에서 제제의 변동을 나타내는 확률변수이다.  $S_{ik}$ 의 분산  $\sigma_S^2$ 은 개체에 의한 변동,  $\varepsilon_{ijk}$ 의 분산  $\sigma_e^2$ 은 제제에 의한 변동을 의미하고,  $\sigma_S^2$ 와  $\varepsilon_{ijk}$ 는 서로 독립을 가정한다.

3기간에 걸친 관측값  $y_{ik} = (y_{i1k}, y_{i2k}, y_{i3k})'$  ( $i = 1, 2, \dots, n_k, k = 1, 2$ )는  $k$ 번째 순서,  $i$ 번째 개체에 게서 얻은 생체이용률 값으로 모형에 근거하여 다음과 같이 나타낼 수 있다.

$$y_{i1} \sim N((\mu + g_1 + p_1 + \pi_T, \mu + g_1 + p_2 + \pi_R + c_T, \mu + g_1 + p_3 + \pi_R + c_R)', \Sigma), \quad (2.3)$$

$$y_{i2} \sim N((\mu + g_2 + p_1 + \pi_R, \mu + g_2 + p_2 + \pi_T + c_R, \mu + g_2 + p_3 + \pi_T + c_T)', \Sigma), \quad (2.4)$$

여기서 분산-공분산 행렬  $\Sigma$ 는 다음과 같다.

$$\Sigma = \begin{pmatrix} \sigma_e^2 + \sigma_S^2 & \sigma_S^2 & \sigma_S^2 \\ \sigma_S^2 & \sigma_e^2 + \sigma_S^2 & \sigma_S^2 \\ \sigma_S^2 & \sigma_S^2 & \sigma_e^2 + \sigma_S^2 \end{pmatrix}. \quad (2.5)$$

식 (2.1)의 통계 모형에서 각 효과들의 유의성 검정을 위한 분산분석표는 다음과 같이 유도되는데, 우선 총제곱합을 분해하면 다음과 같다.

$$\sum_{k=1}^2 \sum_{j=1}^3 \sum_{i=1}^{n_k} (y_{ijk} - \bar{y}_{...})^2 = 3 \sum_{k=1}^2 \sum_{i=1}^{n_k} (\bar{y}_{i.k} - \bar{y}_{...})^2 + \sum_{k=1}^2 \sum_{j=1}^3 \sum_{i=1}^{n_k} (y_{ijk} - \bar{y}_{i.k})^2,$$

$$SS_{Total} = SS_{Between} + SS_{Within},$$

여기서  $SS_{Total}$ 은 총변동이고, 총변동은 개체간 변동  $SS_{Between}$ 과 개체내 변동  $SS_{Within}$ 으로 분해된다. 여기에서 다시 개체간 변동  $SS_{Between}$ 은 순서효과  $SS_{Sequence}$ , 개체간 잔차  $SS_{Inter}$ 로 분해되고, 개체내 변동  $SS_{Within}$ 은 기간효과  $SS_{Period}$ , 제제효과  $SS_{Drug}$ , 잔류효과  $SS_{Carry}$ , 개체내 잔차  $SS_{Intra}$ 로 분해된다.

$$SS_{Between} = SS_{Sequence} + SS_{Inter},$$

$$SS_{Within} = SS_{Period} + SS_{Drug} + SS_{Carry} + SS_{Intra}.$$

각 효과들에 대한 제곱합을 얻기 위한 직교대비를 Table 2.2와 Table 2.3과 Table 2.4와 같이 정의하고 직교대비표를 이용해 각 효과들의 제곱합과 개체간 잔차  $SS_{Inter}$ , 개체내 잔차  $SS_{Intra}$ 를 구하면 다음과 같다.

**Table 2.2** Orthogonal contrasts for  $SS_{Sequence}$ 

| Sequence | $SS_{Sequence}$ |    |    |
|----------|-----------------|----|----|
|          | 1               | 2  | 3  |
| 1        | 1               | 1  | 1  |
| 2        | -1              | -1 | -1 |

**Table 2.3** Orthogonal contrasts for  $SS_{Period}$ 

| Sequence | $SS_{P1}$ |    |   | $SS_{P2}$ |   |    |
|----------|-----------|----|---|-----------|---|----|
|          | 1         | 2  | 3 | 1         | 2 | 3  |
| 1        | 1         | -1 | 0 | 1         | 1 | -2 |
| 2        | 1         | -1 | 0 | 1         | 1 | -2 |

**Table 2.4** Orthogonal contrasts for  $SS_{Drug}$  and  $SS_{Carry}$ 

| Sequence | $SS_{Drug}$ |    |    | $SS_{Carry}$ |    |    |
|----------|-------------|----|----|--------------|----|----|
|          | 1           | 2  | 3  | 1            | 2  | 3  |
| 1        | 2           | -1 | -1 | 0            | 1  | -1 |
| 2        | -2          | 1  | 1  | 0            | -1 | 1  |

$$SS_{Sequence} = \frac{n_1 n_2}{3(n_1+n_2)} (\bar{y}_{.11} + \bar{y}_{.21} + \bar{y}_{.31} - \bar{y}_{.12} - \bar{y}_{.22} - \bar{y}_{.32})^2,$$

$$SS_{Inter} = SS_{Between} - SS_{Sequence},$$

$$SS_{Period} = \frac{n_1 n_2}{2(n_1+n_2)} (\bar{y}_{.11} - \bar{y}_{.21} + \bar{y}_{.12} - \bar{y}_{.22})^2,$$

$$+ \frac{n_1 n_2}{6(n_1+n_2)} (\bar{y}_{.11} + \bar{y}_{.21} - 2\bar{y}_{.31} + \bar{y}_{.12} + \bar{y}_{.22} - 2\bar{y}_{.32})^2,$$

$$SS_{Drug} = \frac{n_1 n_2}{6(n_1+n_2)} (2\bar{y}_{.11} - \bar{y}_{.21} - \bar{y}_{.31} - 2\bar{y}_{.12} + \bar{y}_{.22} + \bar{y}_{.32})^2,$$

$$SS_{Carry} = \frac{n_1 n_2}{2(n_1+n_2)} (\bar{y}_{.21} - \bar{y}_{.31} - \bar{y}_{.22} + \bar{y}_{.32})^2,$$

$$SS_{Intra} = SS_{Within} - SS_{Period} - SS_{Drug} - SS_{Carry}.$$

Table 2.5는 이렇게 정리된 제곱합을 정리한 분산분석표이다.

Table 2.5를 살펴보면 잔류효과가 기간효과에 영향을 주고 있지만, 제제효과에는 영향을 주고 있지 않음을 알 수 있다. 즉,  $2 \times 3$  이중 설계에서는 잔류효과가 존재하든 하지 않은 제제효과를 평가할 수 있다는 의미이다.

MFDS 의약품동등성시험기준에서 두 제제의 생동성 평가는 두 제제의 로그변환한 평균치 차의 90% 신뢰구간을 이용한다.  $2 \times 3$  이중 설계된 생동성 시험에서 90% 신뢰구간은 다음과 같이 구할 수 있다.

두 제제의 평균치 차 즉, 두 제제의 효과의 차  $\pi_T - \pi_R$ 의 추정량은 Table 2.1에서 각 셀의 표본 평균을  $\bar{y}_{jk}$  라 할 때 다음과 같이 나타낼 수 있다.

$$\hat{\pi}_T - \hat{\pi}_R = \frac{1}{4} \{ (2\bar{y}_{.11} - \bar{y}_{.21} - \bar{y}_{.31}) - (2\bar{y}_{.12} - \bar{y}_{.22} - \bar{y}_{.32}) \}. \quad (2.6)$$

**Table 2.5** Analysis of variance table for  $2 \times 3$  dual design

| sources                  | df                 | mean SS         | E(mean SS)                                                                                                                                                                                     |
|--------------------------|--------------------|-----------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Between subjects         |                    |                 |                                                                                                                                                                                                |
| Sequence effect          | 1                  | $MS_{Sequence}$ | $\frac{3n_1 n_2}{(n_1 + n_2)} \left\{ (g_1 - g_2) - \frac{(\pi_T - \pi_R)}{3} \right\}^2 + 3\sigma_S^2 + \sigma_e^2$                                                                           |
| Inter-subjects residuals | $(n_1 + n_2) - 2$  | $MS_{Inter}$    | $3\sigma_S^2 + \sigma_e^2$                                                                                                                                                                     |
| Within subjects          |                    |                 |                                                                                                                                                                                                |
| Period effect            | 2                  | $MS_{Period}$   | $\frac{n_1 n_2}{(n_1 + n_2)} \left\{ (p_1 - p_2) - \frac{(c_T + c_R)}{3} \right\}^2 + \frac{n_1 n_2}{3(n_1 + n_2)} \left\{ (p_1 - p_2 - 2p_3) - \frac{(c_T + c_R)}{3} \right\}^2 + \sigma_e^2$ |
| Drug effect              | 1                  | $MS_{Drug}$     | $\frac{8n_1 n_2}{3(n_1 + n_2)} (\pi_T - \pi_R)^2 + \sigma_e^2$                                                                                                                                 |
| Carryover effect         | 1                  | $MS_{Carry}$    | $\frac{2n_1 n_2}{(n_1 + n_2)} (c_T - c_R)^2 + \sigma_e^2$                                                                                                                                      |
| Intra-subjects residuals | $2(n_1 + n_2) - 4$ | $MS_{Inter}$    | $\sigma_e^2$                                                                                                                                                                                   |
| Total                    | $3(n_1 + n_2) - 1$ |                 |                                                                                                                                                                                                |

여기서 식 (2.6)의  $\hat{\pi}_T - \hat{\pi}_R$ 은 두 제제의 효과의 차  $\pi_T - \pi_R$ 의 최량 선형 불편추정량 (best linear unbiased estimator, BLUE)으로 알려져 있고 (Kershner와 Federer, 1981),  $\hat{\pi}_T - \hat{\pi}_R$ 의 평균과 분산은 식 (2.3), 식 (2.4), 식 (2.5)에 근거하여 다음과 같다.

$$E(\hat{\pi}_T - \hat{\pi}_R) = \pi_T - \pi_R,$$

$$Var(\hat{\pi}_T - \hat{\pi}_R) = \frac{3}{8} \left( \frac{1}{n_1} - \frac{1}{n_2} \right) \sigma_e^2.$$

두 제제의 효과의 차  $\pi_T - \pi_R$ 의 90% 신뢰구간은 개체내 변동  $\sigma_e^2$ 을 이용하여 다음과 같이 표현할 수 있다 (Chow와 Liu, 2008).

$$\left( \hat{\pi} - t_{(0.05, 2(n_1 + n_2) - 4)} \hat{\sigma}_e \sqrt{\frac{3}{8} \left( \frac{1}{n_1} - \frac{1}{n_2} \right)}, \hat{\pi} + t_{(0.05, 2(n_1 + n_2) - 4)} \hat{\sigma}_e \sqrt{\frac{3}{8} \left( \frac{1}{n_1} - \frac{1}{n_2} \right)} \right), \quad (2.7)$$

여기서  $\hat{\pi} = \hat{\pi}_T - \hat{\pi}_R$ 이고,  $t_{(0.05, 2(n_1 + n_2) - 4)}$ 는 자유도가  $2(n_1 + n_2) - 4$ 인 t-분포의 상위 5% 백분위수이다.  $\hat{\sigma}_e$ 는 Table 2.5 분산분석표에서 개체내 잔차 변동인  $MS_{Intra}$ 의 제곱근이다.

한편 Li(2014)는 기간이 3인 교차설계를 논의하면서 제제효과의 추정량을 다음과 같이 정의하고 추론하였다.

$$\hat{\pi}_T^* - \hat{\pi}_R^* = \frac{1}{3} \{ (\bar{y}_{.11} + \bar{y}_{.22} + \bar{y}_{.32}) - (\bar{y}_{.12} + \bar{y}_{.21} + \bar{y}_{.31}) \}, \quad (2.8)$$

$$E(\hat{\pi}_T^* - \hat{\pi}_R^*) = (\pi_T - \pi_R) - \frac{1}{3} (g_1 - g_2), \quad (2.9)$$

$$Var(\hat{\pi}_T^* - \hat{\pi}_R^*) = \frac{1}{3} \left( \frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right) \left( \sigma_e^2 + \frac{1}{3} \sigma_S^2 \right). \quad (2.10)$$

하지만 추정량 식 (2.8)은 식 (2.9)에서 보듯이 제제효과의 차이가 불편성을 만족하지 못하며, 식 (2.10)처럼 추정량의 분산도 개체간 잔차에 의존하여 통계적 추론에는 부적절함을 알 수 있다.

### 3. 2×4 반복 설계에서 통계적 추론

2×4 반복 설계는 표준 2×2 교차설계를 두 번 반복하는 시험으로 기간에 배치되는 순서에 따라 (TRTR, RTRT) 또는 (TRRT, RTTR) 등을 고려해 볼 수 있는데, 본 연구에서는 Table 3.1과 같이 (TRTR, RTRT)의 경우를 추론해 본다.

**Table 3.1** 2×4 design

|          |   | Period |         |        |         |        |         |        |
|----------|---|--------|---------|--------|---------|--------|---------|--------|
|          |   | 1      | 2       | 3      | 4       |        |         |        |
| Sequence | 1 | T<br>R | washout | R<br>T | washout | T<br>R | washout | R<br>T |
|          | 2 |        |         |        |         |        |         |        |

Table 3.1의 2×4 반복 설계에서 잔류효과까지 고려한 완전 통계 모형은 다음과 같다.

$$\begin{aligned}
 y_{ijk} &= \mu + g_k + S_{ik} + p_j + \pi_{(j,k)} + c_{(j-1,k)} + \varepsilon_{ijk}, \\
 S_{ik} &\sim iidN(0, \sigma_S^2), \quad \varepsilon_{ijk} \sim iidN(0, \sigma_\varepsilon^2), \\
 i &= 1, 2, \dots, n_k, \quad j = 1, 2, 3, 4, \quad k = 1, 2.
 \end{aligned} \tag{3.1}$$

로그변환한 생체이용률 값  $y_{ijk}$ 와 모형의 모수들은 2x3 이중 설계와 동일하며, 다만, 순서효과, 기간 효과, 제제효과, 잔류효과는 다음의 조건을 만족한다.

$$\begin{aligned}
 \sum_{k=1}^2 g_k &= 0, \quad \sum_{j=1}^4 p_j = 0, \quad \sum_{k=1}^2 \sum_{j=1}^4 \pi_{(j,k)} = 0, \quad \sum_{k=1}^2 \sum_{j=2}^4 c_{(j-1,k)} = 0, \\
 \pi_{(j,k)} &= \begin{cases} \pi_T, & (j,k) = (1,1), (2,2), (3,1), (4,2) \\ \pi_R, & (j,k) = (1,2), (2,1), (3,2), (4,1), \end{cases} \\
 c_{(j-1,k)} &= \begin{cases} c_T, & (j-1,k) = (2,1), (3,2), (4,1) \\ c_R, & (j-1,k) = (2,2), (3,1), (4,2). \end{cases}
 \end{aligned} \tag{3.2}$$

2×3 이중 설계에서 분산분석표를 유도한 방식과 비슷하게 다음과 같은 직교대비표를 이용해서 Table 3.5와 같은 분산분석표를 만들 수 있다.

**Table 3.2** Orthogonal contrasts for  $SS_{Sequence}$

| Sequence | $SS_{Sequence}$ |    |    |    |
|----------|-----------------|----|----|----|
|          | 1               | 2  | 3  | 4  |
| 1        | 1               | 1  | 1  | 1  |
| 2        | -1              | -1 | -1 | -1 |

Table 2.5와 Table 3.5를 비교해보면 잔류효과가 존재하는 경우 2×4 반복 설계에서는 잔류효과가 제제효과를 비롯하여 순서효과, 기간효과 등과 모두 교탁되어 효과들의 통계적 추론이 쉽지 않음을 알 수 있다. 하지만 2×3 이중 설계에서는 잔류효과가 존재하더라도 제제효과를 평가하는데 문제가 없음을 알 수 있다.

**Table 3.3** Orthogonal contrasts for  $SS_{Period}$ 

| Sequence | $SS_{P1}$<br>Period |   |    |    | $SS_{P2}$<br>Period |    |   |    | $SS_{P3}$<br>Period |   |   |    |
|----------|---------------------|---|----|----|---------------------|----|---|----|---------------------|---|---|----|
|          | 1                   | 2 | 3  | 4  | 1                   | 2  | 3 | 4  | 1                   | 2 | 3 | 4  |
| 1        | 1                   | 1 | -1 | -1 | 1                   | -1 | 1 | -1 | -1                  | 1 | 1 | -1 |
| 2        | 1                   | 1 | -1 | -1 | 1                   | -1 | 1 | -1 | -1                  | 1 | 1 | -1 |

**Table 3.4** Orthogonal contrasts for  $SS_{Drug}$  and  $SS_{Carry}$ 

| Sequence | $SS_{Drug}$<br>Period |    |    |    | $SS_{Carry}$<br>Period |    |    |    |
|----------|-----------------------|----|----|----|------------------------|----|----|----|
|          | 1                     | 2  | 3  | 4  | 1                      | 2  | 3  | 4  |
| 1        | 1                     | -1 | 1  | -1 | 0                      | 1  | -2 | 1  |
| 2        | -1                    | 1  | -1 | 1  | 0                      | -1 | 2  | -1 |

**Table 3.5** Analysis of variance table for  $2 \times 4$  design

| sources                  | df                 | mean SS         | E(mean SS)                                                                                                     |
|--------------------------|--------------------|-----------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Between subjects         |                    |                 |                                                                                                                |
| Sequence effect          | 1                  | $MS_{Sequence}$ | $\frac{4n_1 n_2}{(n_1+n_2)} \left\{ (g_1 - g_2) + \frac{(c_T - c_R)}{4} \right\}^2 + 4\sigma_S^2 + \sigma_e^2$ |
| Inter-subjects residuals | $(n_1 + n_2) - 2$  | $MS_{Inter}$    | $4\sigma_S^2 + \sigma_e^2$                                                                                     |
| Within subjects          |                    |                 |                                                                                                                |
| Period effect            | 3                  | $MS_{Period}$   | $\frac{n_1 n_2}{3(n_1+n_2)} [ \left\{ (p_1 + p_2 - p_3 - p_4) - \frac{(c_T + c_R)}{2} \right\}^2$              |
|                          |                    |                 | $+ \left\{ (p_1 - p_2 + p_3 - p_4) - \frac{(c_T + c_R)}{2} \right\}^2$                                         |
|                          |                    |                 | $+ \left\{ (-p_1 + p_2 + p_3 - p_4) - \frac{(c_T + c_R)}{2} \right\}^2 ] + \sigma_e^2$                         |
| Drug effect              | 1                  | $MS_{Drug}$     | $\frac{4n_1 n_2}{(n_1+n_2)} \left\{ (\pi_T - \pi_R) - \frac{3(c_T - c_R)}{4} \right\}^2 + \sigma_e^2$          |
| Carryover effect         | 1                  | $MS_{Carry}$    | $\frac{8n_1 n_2}{3(n_1+n_2)} \{ (c_T - c_R) - (\pi_T - \pi_R) \}^2 + \sigma_e^2$                               |
| Intra-subjects residuals | $3(n_1 + n_2) - 5$ | $MS_{Inter}$    | $\sigma_e^2$                                                                                                   |
| Total                    | $4(n_1 + n_2) - 1$ |                 |                                                                                                                |

#### 4. $2 \times 3$ 이중 설계 분석 사례

Woo 등 (2017)에서 제시된  $2 \times 3$  이중 설계 Cmax 시험 자료를 활용하고, 잔류효과를 포함한 모형을 고려한다. Table 4.1의 분산분석표는 Woo 등 (2017)에 제시된 분산분석표에 잔류효과 항목이 추가된 것이다. 유의수준 5%에서 잔류효과는 존재하지 않음을 통계적으로 확인할 수 있지만,  $2 \times 3$  이중 설계를 사용하고 있기 때문에 설사 잔류효과가 존재하더라도 잔류효과의 존재 여부와 상관없이 두 제제간의 생동성 평가를 수행할 수 있다.

두 제제의 평균치 차의 90% 신뢰구간은 (-0.0460, 0.2546)으로 추정된다. 잔류효과를 고려하지 않은 모형을 이용한 Woo 등 (2017)에서 계산된 신뢰구간 (-0.0489, 0.2575)와 비교해보면 잔류효과를 고려하였기 때문에 피험자내 잔차가 줄어들어 보다 좁은 신뢰구간 범위를 얻을 수 있음을 알 수 있다.

두 제제간의 생동성 평가에는 고차 교차설계인  $2 \times 3$  이중 설계를 이용했기 때문에 의약품동등성시험 기준 제17조에 의한 확장된 신뢰구간을 활용할 수 있다. 대조제제 변동계수 값이 약 38%로 규정에 제

시된 확장된 허용한계는 (-0.2791, 0.2791)로 계산되므로, 90% 신뢰구간은 허용구간 안에 포함됨을 알 수 있고 두 제제간의 생동성을 인정할 수 있다.

**Table 4.1** Analysis of variance table for 2×3 dual design

| sources                  | degrees of freedom | sums of squares | mean squares | F statistics | Pr(> F) |
|--------------------------|--------------------|-----------------|--------------|--------------|---------|
| Between-subjects         |                    |                 |              |              |         |
| Sequence effect          | 1                  | 0.1668          | 0.1668       | 1.576        | 0.223   |
| Inter-subjects residuals | 22                 | 2.3288          | 0.1058       |              |         |
| Within-subjects          |                    |                 |              |              |         |
| Period effect            | 2                  | 0.327           | 0.1636       | 1.277        | 0.289   |
| Drug effect              | 1                  | 0.174           | 0.1740       | 1.359        | 0.250   |
| Carryover effect         | 1                  | 0.357           | 0.3573       | 2.790        | 0.102   |
| Intra-subjects residuals | 44                 | 5.634           | 0.1280       |              |         |
| Total                    | 71                 |                 |              |              |         |

## 5. 결론

최근 오리지널 의약품의 변동성이 큰 제제들이 많아지면서 표준 2×2 교차설계를 통해 시험을 하는 경우 생동성 입증에 실패하는 사례가 많아지고 있다. 제제간 생동성 입증이 실패하는 원인 중 하나가 제제의 특성에 기인하는 요인을 제대로 반영하지 못해 변동성이 커지게 되는 것으로 알려져 있다. 최근 생동성 평가에서 제제의 특성에 따른 잔류효과를 모형에서부터 고려해야 한다는 필요성도 논의되고 있지만 (Cavana 등, 2015), 잔류효과를 고려한 생동성 평가 모형에 대한 통계적 추론은 논의가 부족한 실정이다.

제제간 생동성 평가에서 잔류효과를 고려하려면 표준 2×2 교차설계로는 어렵기 때문에 2×k 고차 교차설계를 활용해야 하고, 2×4 반복 설계나 2×3 이중 설계가 대안으로 고려될 수 있다. 본 연구논문에서는 잔류효과를 고려할 때 2×3 이중 설계와 2×4 반복 설계의 통계적 추론을 제시하고, 제제효과를 추론하는데 2×3 이중 설계가 보다 효과적인 설계일 수 있는 점을 논의하였다. 또한 2×3 이중 설계는 표준 2×2 교차설계보다 한 기간만을 추가하면서도 개정된 의약품동등성시험기준에 의해서 고차 교차설계에서만 적용되는 확장된 신뢰구간을 활용할 수 있다는 경제적이고 윤리적인 장점도 함께 논의하였다.

## References

- Cavana, J., Sanchez O, M. and Carrasco, J. (2015). Carryover negligibility and relevance in bioequivalence studies. *Pharmaceutical Statistics*, **14**, 400-408.
- Chow, S. C. and Liu, L. (2008). *Design and analysis of bioavailability and bioequivalence studies*, 3rd edition, Chapman & Hall.
- Grizzle, J. (1965). The two-period change-over design and its use in clinical trials. *Biometrics*, **21**, 467-480.
- Jeong, G. and Park, S. (2011). On evaluation of bioequivalence for highly variable drugs. *Korean Journal of Applied Statistics*, **24**, 1055-1076.
- Kershner R. P. and Federer, W. T.(1981). Two-treatment crossover designs for estimating a variety of effects. *Journal of the American Statistical Association*, **76**, 612-618.
- Laska E, Meisner, M. and Kushner, HB. (1983). Optimal crossover designs in the presence of carryover effects. *Biometrics*, **39**, 1087-1091.
- Li, C. (2014). *Design and analysis of crossover trials. Lecture note*, University of California, Lecture Davis, <https://www.ucdmc.ucdavis.edu/.../centers/.../bbcd.oct.2014.pdf>
- Ministry of Food & Drug Safety (2018). *Standard on pharmaceutical equivalence study*, No. 2018-29 (Korean).

- Noh, S. and Park, S. (2013). Some statistical consideration on  $2 \times k$  crossover designs for bioequivalence trial. *Korean Journal of Applied Statistics*, **26**, 675-686.
- Park, J. and Park, S. (2016). Assessing bioequivalence for highly variable drugs based on  $3 \times 3$  crossover designs. *Korean Journal of Applied Statistics*, **29**, 279-289.
- Senn, S. (1988). Cross-over trials, carry-over effects and the art of self-delusion. *Statistics in Medicine*, **7**, 1099-1101.
- Woo, H., Jeong, G. and Park, S. (2017). Assessing bioequivalence in  $2 \times 3$  dual designs. *Journal of Korean Data & Information Science Society*, **28**, 743-754

## On the use of $2 \times 3$ dual design in assessing bioequivalence model with carryover effect<sup>†</sup>

Hwa Hyoung Woo<sup>1</sup> · Sang-Gue Park<sup>2</sup> · Woori Ko<sup>3</sup>

<sup>1</sup>College of General Education, Chung-Ang University

<sup>2</sup>Department of Applied Statistics, Chung-Ang University

<sup>3</sup>Department of Statistics, Graduate School of Chung-Ang University

Received 30 October 2018, revised 16 November 2018, accepted 16 November 2018

### Abstract

A  $2 \times 2$  crossover design is the traditional statistical design for assessing bioequivalence between original drug and generic drug. Recently  $2 \times k$  higher crossover designs are getting popular for assessing the bioequivalence of highly variable drug. Higher order crossover designs allow inference of drug effect even in the presence of a carryover effect.  $2 \times 3$  crossover design is preferred for economical and ethical reasons compared to  $2 \times 4$  crossover design, and it provides the inference of drug effect effectively with carryover effect. An illustrated example is also discussed with standard on pharmaceutical equivalence study of MFDS.

**Keywords:**  $2 \times 3$  dual design, bioequivalence assessment, carryover effect, generic drug, highly variable drug.

---

<sup>†</sup> This research was supported by the Chung-Ang University Research Scholarship Grants in 2017.

<sup>1</sup> Lecturer, College of General Education, Chung-Ang University, Seoul 06974, Korea.

<sup>2</sup> Corresponding author: Professor, Department of Applied Statistics, Seoul 06974, Korea.

E-mail: spark@cau.ac.kr

<sup>3</sup> Graduate student, Department of Statistics, Graduate School of Chung-Ang University, Seoul 06974, Korea.