



# BIOEQUIVALENCIA DE MEDICAMENTOS EN FÁRMACOS DE ALTA VARIABILIDAD

Trabajo de titulación presentado por  
**Catherine Fernanda Bravo Orrego**  
para optar al grado de Licenciado en Estadística  
y al título de Ingeniero Estadístico

Profesor Guía  
Dra. María Pilar Sánchez Olavarría

Valparaíso, Chile  
2014



*Dedicado a  
mi familia*

# Agradecimientos

- En primer lugar agradecer a mis padres, Ana y Hernán, por la educación brindada desde pequeña, para así poder llegar a estas instancias. Por el constante apoyo, cariño y amor entregado durante toda mi vida.
- A mi hermana, Cinthya, por su apoyo, y por ser aquella persona que me instaba a seguir cuando ya no daba más.
- A mi profesora guía, María Pilar Sánchez, por su excelente trabajo conmigo, por ayudarme, apoyarme y motivarme. Por dar todo lo posible para tener buenas oportunidades. Mejor profesora guía, no creo haber tenido.
- A Rodrigo Villegas, por su ayuda brindada, y la buena voluntad para hacerlo.
- A mis compañeros, por la compañía a lo largo de mi carrera. Por haber pasado ratos agradables, y que así, mi estadía como estudiante haya sido más grata.
- A mis amigos cercanos, que brindaron su apoyo y compañía en el ámbito personal.
- Y finalmente, a DIOS, que está siempre ahí conmigo.

# Resumen

La bioequivalencia es un término usado en farmacocinética para describir la equivalencia biológica o terapéutica *in vivo* que se espera de dos preparaciones de un medicamento hecho por dos fabricantes distintos; es decir, se espera que ambos sean, para todos los propósitos terapéuticos, iguales. Estos medicamentos deben tener el mismo principio activo, la misma pureza, el mismo tamaño de las partículas y ser administrados por la misma vía, para denominarse bioequivalentes. Uno de los beneficios que se obtienen al declarar bioequivalencia, es lograr en primera instancia que la entidad regulatoria del medicamento asegure eficacia y seguridad a la población. Otro punto también muy relevante corresponde a la diferencia monetaria entre el fármaco innovador y el fármaco genérico, dado que el medicamento innovador refleja el costo de la gran inversión para desarrollarlo.

La bioequivalencia comúnmente utilizada corresponde a la bioequivalencia promedio (Average bioequivalence, ABE), la cuál está basada en la construcción de un intervalo de confianza para la media de dos métricas farmacocinéticas: área bajo la curva y concentración máxima que han sido previamente transformadas a logaritmo.

Para el caso de los fármacos que están descritos como fármacos de alta variabilidad (aquellos con un coeficiente de variación intrasujeto mayor al 30%), existe un método alternativo para el cálculo de la bioequivalencia el cuál ha sido recomendado por las agencias del medicamento EMA y FDA. Este método corresponde a la bioequivalencia promedio escalada (Scaled average bioequivalence, SABE), el cuál permite escalar los límites de bioequivalencia y mejorar la posibilidad de que un fármaco de estas características pueda probar bioequivalencia, al incorporar algunos valores de variabilidad que no considera el intervalo clásico en la construcción del intervalo.

En este trabajo de titulación se estudiará específicamente las pruebas estadísticas para el cálculo de la bioequivalencia, aplicadas a 6 fármacos de alta variabilidad.

Estos son:

- Atorvastatina 20 mg
- Losartán 50 mg
- Losartán 100 mg
- Novsar (Losartán) 50 mg
- Lipotropic (Atorvastatina) 20 mg
- Losapress (Losartán potásico) 100 mg.

Estos fármacos son de tipo antihipertensivo e hipocolesterolémico, dos grandes patologías que desencadenan un problema a nivel nacional.

# Abstract

Bioequivalence is a pharmacokinetic term used to describe the biological or *in vivo* therapeutic equivalence, that is expected of two preparations of medicines made by two different manufacturers; that is, both are expected to be, for all therapeutic purposes, the same. These drugs must have the same active ingredient, the same purity, the same particle size and be administered by the same route, to be called bioequivalent. One of the benefits gained by declaring bioequivalence is to achieve in the first instance, that the drug regulatory agency ensure efficacy and safety of the population. Another very important point also corresponds to the monetary difference between the innovator drug and the generic drug, since the innovator reflects the cost of the large investment to develop it.

The commonly used is the average bioequivalence (ABE), which is based on the construction of a confidence interval for the mean of two pharmacokinetic metrics: area under the curve and maximum concentration that have been previously transformed to logarithm.

In the case of drugs that are described as highly variable drugs (those with a within-subject coefficient of variation greater than 30%), there is an alternative method for calculating the bioequivalence which has been recommended by the drug agencies EMA and FDA. This method corresponds to the scaled average bioequivalence (SABE), which allows scaling the bioequivalence limits and improve the possibility that a drug of this nature can prove bioequivalence, incorporating some values of variability that does not consider the range classic construction of the interval.

This paper specifically titration study statistical tests to calculate bioequivalence, applied to 6 drugs of high variability.

These are:

- Atorvastatina 20 mg
- Losartán 50 mg
- Losartán 100 mg
- Novsar (Losartán) 50 mg
- Lipotropic (Atorvastatina) 20 mg
- Losapress (Losartán potásico) 100 mg.

These drugs are antihypertensive and hypocholesterolemic type, two conditions that trigger a problem nationwide.



# Índice general

Agradecimientos	II
Resumen	III
Abstract	V
Índice de figuras	IX
Índice de tablas	X
Abreviaturas	XIV
<b>1. Introducción</b>	<b>1</b>
1.1. Definiciones . . . . .	4
1.2. Objetivos . . . . .	7
1.2.1. Objetivo general . . . . .	7
1.2.2. Objetivos específicos . . . . .	7
<b>2. Marco teórico</b>	<b>8</b>
2.1. Problemática de salud pública en bioequivalencia . . . . .	8
2.1.1. Visión del ISP y Ministerio de Salud de Chile . . . . .	8
2.1.2. Visión de la OMS . . . . .	9
2.1.3. Diferentes visiones profesionales . . . . .	10
2.2. Diseño de un estudio de bioequivalencia . . . . .	14
2.3. Cálculo del tamaño muestral . . . . .	15
2.4. Hipótesis estadísticas para los estudios de bioequivalencia . . . . .	18
2.5. Métricas farmacocinéticas . . . . .	20
2.6. Diseño cruzado o <i>crossover</i> $2 \times 2$ . . . . .	22
2.6.1. Modelo estadístico asociado al diseño cruzado . . . . .	25
2.6.2. Efectos del modelo estadístico asociados al diseño cru- zado . . . . .	26
2.6.3. Diseño cruzado replicado . . . . .	28
2.7. Análisis estadístico . . . . .	29
2.7.1. Estadística descriptiva . . . . .	29

2.7.2.	Análisis de varianza (ANOVA)	30
2.7.3.	Análisis de bioequivalencia	30
2.8.	Transformación logarítmica de los datos	31
2.8.1.	Criterio clínico	31
2.8.2.	Criterio farmacocinético	31
2.8.3.	Criterio estadístico	33
2.9.	Intervalo de confianza (IC)	33
2.10.	<i>Two one-sided test</i> (TOST)	34
2.11.	Evolución de las reglas de prueba para bioequivalencia	36
2.12.	Fármacos/productos de alta variabilidad (Highly variable, HV)	37
2.13.	Fármacos con margen terapéutico estrecho (Narrow therapeutic index, NTI)	37
2.14.	Características de un estudio de BE	38
2.15.	Comparación de la bioequivalencia promedio con la bioequivalencia promedio escalada	40
2.15.1.	Bioequivalencia promedio	40
2.15.2.	Bioequivalencia promedio escalada	41
2.16.	Criterios de las autoridades reguladoras: FDA y EMA	42
2.17.	Justificación	45
2.18.	Hipótesis	45
<b>3.</b>	<b>Metodología</b>	<b>46</b>
3.1.	Diseño del estudio	46
3.2.	Datos	47
3.3.	VARIABLES evaluadas	47
3.4.	Simulaciones	47
<b>4.</b>	<b>Análisis y resultados</b>	<b>48</b>
4.1.	Tipos de fármacos evaluados	48
4.2.	Estadísticas descriptivas de las métricas farmacocinéticas	49
4.3.	Descripción del tamaño muestral (n) y del diseño experimental	51
4.4.	Medición de los efectos asociados al diseño cruzado	52
4.5.	Cálculo de los $CV_{intrasujeto}$ para cada fármaco	56
4.6.	Construcción del IC para la bioequivalencia promedio	57
4.7.	Cálculo de la potencia real del estudio	58
4.8.	Cálculo del tamaño muestral ideal del estudio	59
4.9.	Cálculo de la bioequivalencia promedio escalada	60
4.10.	Comparación de la bioequivalencia promedio con la bioequivalencia promedio escalada	63
<b>5.</b>	<b>Conclusiones</b>	<b>69</b>

<b>A. Código en R-project</b>	<b>72</b>
A.1. Determinación del tamaño muestral y de la potencia . . . . .	72
A.2. Determinación de ABE y SABE en los fármacos . . . . .	72
A.2.1. Variable $ABC_{0 \rightarrow t}$ . . . . .	72
A.2.2. Variable $ABC_{0 \rightarrow \infty}$ . . . . .	76
A.2.3. Variable $C_{max}$ . . . . .	79
<b>B. Código en Stata</b>	<b>84</b>
B.1. Determinación de ANOVA y ABE en los fármacos . . . . .	84
<b>C. Fórmulas</b>	<b>86</b>
C.1. Cálculo del escalado en SABE: Escalado con la variación in- trasujeto del producto de referencia . . . . .	86
C.2. Efectos asociados al diseño cruzado . . . . .	88
C.2.1. Efecto de arrastre (o <i>carryover</i> ) . . . . .	89
C.2.2. Efecto de tratamientos . . . . .	91
C.2.3. Efecto de periodo . . . . .	93
<b>Bibliografía</b>	<b>96</b>

# Índice de figuras

1.1. Determinación de bioequivalencia. . . . .	3
2.1. Curvas de concentración plasmática de las formulaciones de referencia y de prueba. . . . .	21
2.2. Diseño cruzado de $2 \times 2$ (dos periodos y dos secuencias). . . . .	24
2.3. Margen terapéutico de un fármaco. . . . .	38
2.4. Límites de BE según FDA. . . . .	43
2.5. Límites de BE según EMA. . . . .	44
4.1. Comparación entre las potencias de la métrica farmacocinética $C_{max}$ de SABE dadas por el criterio de la FDA y de la EMA. . . . .	66
4.2. Comparación entre las potencias de la métrica farmacocinética $ABC_{0 \rightarrow t}$ de SABE dadas por el criterio de la FDA y de la EMA. . . . .	67
4.3. Comparación entre las potencias de la métrica farmacocinética $ABC_{0 \rightarrow \infty}$ de SABE dadas por el criterio de la FDA y de la EMA. . . . .	68

# Índice de tablas

2.1. Tamaños muestrales para los requisitos de la FDA en los estudios de 3 periodos. . . . .	16
2.2. Tamaños muestrales para los requisitos de la FDA en los estudios de 4 periodos. . . . .	16
2.3. Tamaños muestrales para los requisitos de la EMA en los estudios de 3 periodos. . . . .	17
2.4. Tamaños muestrales para los requisitos de la EMA en los estudios de 4 periodos. . . . .	17
2.5. Errores tipo I y II en un test de hipótesis de BE. . . . .	39
2.6. Criterios para declarar BE utilizados por ambas agencias reguladoras, la FDA y la EMA. . . . .	44
4.1. Clasificación terapéutica de los fármacos analizados. . . . .	48
4.2. Medidas descriptivas de las métricas farmacocinéticas de referencia v/s prueba. . . . .	49
4.3. Resumen de los tamaños muestrales, tipos de diseños utilizados y condición del fármaco en los estudios presentados en el ISP. . . . .	51
4.4. Efectos asociados al diseño cruzado $2 \times 2$ para Atorvastatina 20 mg Opko. . . . .	53
4.5. Efectos asociados al diseño cruzado $2 \times 2$ para Losartán 50 mg Mintlab. . . . .	53
4.6. Efectos asociados al diseño cruzado $2 \times 2$ para Losartán 100 mg lab Chile. . . . .	53
4.7. Efectos asociados al diseño cruzado $2 \times 2$ para Novsar (losartán) 50 mg Medinova. . . . .	54
4.8. Efectos asociados al diseño cruzado $3 \times 3$ para Lipotropic (atorvastatina) 20 mg. . . . .	54
4.9. Efectos asociados al diseño cruzado $3 \times 3$ para Losapress 100 mg (losartán potásico). . . . .	55
4.10. Resumen de los $CV_{intrasujeto}$ de los estudios presentados en el ISP. . . . .	56
4.11. Valores de los IC para ABE. . . . .	57

4.12. Valores de tamaños muestrales de los estudios, y la potencia asociada a cada estudio. . . . .	58
4.13. Tamaño muestral y potencia para valores teóricos. . . . .	59
4.14. Valores de los límites superiores para SABE, según criterio de FDA. . . . .	61
4.15. Valores de los límites superiores para SABE, según criterio de EMA. . . . .	62
4.16. Comparación entre las potencias obtenidas por ambos tipos de bioequivalencias de acuerdo al criterio de la FDA. . . . .	63
4.17. Comparación entre las potencias obtenidas por ambos tipos de bioequivalencias de acuerdo al criterio de la EMA. . . . .	65
C.1. Asignación de las formulaciones en un diseño cruzado $2 \times 2$ para el $i$ -ésimo voluntario. . . . .	88
C.2. Resumen de las inferencias estadísticas para los efectos fijos en un diseño cruzado $2 \times 2$ . . . . .	95



## Abreviaturas

90 % CI	90 % Confidence Interval	Intervalo de Confianza al 90 %
$ABC$	Area Under the Curve	Área Bajo la Curva
$ABC_{0 \rightarrow t}$	Area Under the Curve time 0 to time $t$	Área Bajo la Curva del tiempo 0 a tiempo $t$
$ABC_{0 \rightarrow \infty}$	Area Under the Curve time 0 to time $\infty$	Área Bajo la Curva del tiempo 0 al tiempo $\infty$
$ABE$	Average Bioequivalence	Bioequivalencia Promedio
$AF$	Pharmaceutical Stock	Almacén Farmacéutico
$ANAMED$	National Drug Agency, Chile	Agencia Nacional del Medicamento, Chile
$ANMAT$	National Administration of Drugs, Food and Medical Technology, Argentina	Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica, Argentina
$BD$	Bioavailability	Biodisponibilidad
$BE$	Bioequivalence	Bioequivalencia
$C_{max}$	Peak Plasma Concentration	Concentración Plasmática Máxima
$CV$	Coefficient of Variation	Coficiente de Variación
$EMA$	European Medicines Agency	Agencia Europea de Medicamentos
$FDA$	Food and Drug Administration	Administración de Alimentos y Medicamentos
$GMR$	Geometric Mean Ratio	Razón de Media Geométrica
$HVD$	Highly Variable Drugs	Fármacos de Alta Variabilidad
$IBE$	Individual Bioequivalence	Bioequivalencia Individual
$ISP$	Institute of Public Health	Instituto de Salud Pública
$k$	Scaling factor of the limits proposed by EMA	Factor de escala de los límites propuestos por la EMA
$k_e$	Elimination half-life of the drug	Vida media de eliminación del fármaco
$NTI$	Narrow Therapeutic Index	Índice Terapéutico Estrecho
$OECD$	Organization for Economic Cooperation and Development	Organización para la Cooperación y Desarrollo Económico
$OMS$	World Health Organization	Organización Mundial de la Salud
$PBE$	Population Bioequivalence	Bioequivalencia Poblacional



<i>PK</i>	Pharmacokinetic(s)	Farmacocinético
<i>R</i>	Reference Product	Producto de Referencia
<i>SABE</i>	Scaled Average Bioequivalence	Bioequivalencia Promedio Escalada
<i>SEREMI</i>	Regional Ministerial Secretary	Secretaría Regional Ministerial
$s_{w0}$	Constant referring to regulatory standardized variation of FDAs limits	Constante referida a la variación estándar regulatoria de los límites según FDA
$s_{wR}$	Standard deviation corresponding to $s_{wR}^2$	Desviación estándar correspondiente a $s_{wR}^2$
$s_w^2$	Within-subject Variability	Variabilidad Intrasujeto
$s_{wR}^2$	Within-subject Variability of the reference product	Variabilidad Intrasujeto del producto de referencia
$s_{wT}^2$	Within-subject Variability of the Test Product	Variabilidad Intrasujeto del producto de prueba
<i>T</i>	Test Product	Producto de Prueba
$t_{max}$	Time to reach the peak of maximum concentration	Tiempo para alcanzar el peak de concentración máxima
<i>TOST</i>	The Two One Sided Test	Prueba de Dos Colas Unilaterales

# Capítulo 1

## Introducción

Los fármacos o medicamentos corresponden a cualquier sustancia, natural o sintética, o mezcla de ellas, que se destina al ser humano con fines de curación, atenuación, tratamiento, prevención o diagnóstico de las enfermedades o sus síntomas, para modificar sistemas fisiológicos o el estado mental en beneficio de la persona a quien le es administrado. Existen los medicamentos genéricos (o de prueba) y los medicamentos de referencia (de marca, original, innovador) (ISP, 2013).

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), un medicamento genérico es aquel vendido bajo la denominación del principio activo que incorpora, siendo bioequivalente a la marca original, es decir, igual en composición y forma farmacéutica y con la misma biodisponibilidad que el fármaco de referencia. Puede reconocerse porque en el envase del medicamento en lugar de un nombre comercial, figura el nombre de la sustancia que realiza la acción terapéutica seguido del nombre del laboratorio fabricante. Un medicamento genérico puede ser elaborado una vez vencida la patente del medicamento de marca siempre que reúna todas las condiciones de calidad y también debe ofrecer la misma seguridad que cualquier otro medicamento (ISP, 2013).

La autoridad de salud en cada país es la encargada de velar por el cumplimiento de la regulación que afecta la bioequivalencia, a través de las llamadas en forma general, agencias reguladoras del medicamento. En Estados Unidos corresponde a la FDA (Food and Drug administration, Administración de Drogas y Alimentos), en Europa corresponde a la EMA (European Medicines Agency, Agencia del Medicamento Europea) y en Chile, es a través de ANAMED (Agencia Nacional del Medicamento) unidad dentro del Instituto de Salud Pública (ISP).

La bioequivalencia promedio entre un medicamento genérico y su producto de referencia correspondiente es uno de los criterios exigidos por cualquier

agencia del medicamento para asegurar la seguridad y eficacia del medicamento genérico. La FDA y la EMA las exigen para la aprobación de comercialización de un nuevo medicamento genérico. La bioequivalencia promedio corresponde a la comparación entre dos o más formulaciones basadas en la velocidad y magnitud de la absorción. Dos productos medicinales son bioequivalentes si son equivalentes farmacéuticos o alternativas farmacéuticas, y sus biodisponibilidades (BD) luego de la administración de la misma dosis molar son similares en grado tal que sus efectos, con respecto a eficacia y seguridad, serán esencialmente los mismos (FDA, 2003) y (EMA, 2001). La ABE se determina a través de estudios de BD, la que se define como la velocidad y extensión a la cuál el principio activo o entidad se absorbe desde una formulación y llega a estar disponible en el sitio de acción (FDA, 2003). Para formulaciones que no se absorben en el flujo sanguíneo, la biodisponibilidad se podría evaluar mediante mediciones que reflejen la velocidad y extensión en la que el ingrediente activo o entidad esté disponible en el sitio de acción (FDA, 2003). Por otro lado, la EMA considera un elemento adicional y específico, el cuál dice: que se entiende que la extensión y la velocidad de una sustancia activa o su entidad se libera desde una forma farmacéutica y llega a estar disponible en la circulación (EMA, 2001).

Un tratamiento efectuado con un genérico tiene un costo indudablemente inferior a un medicamento de marca (el mismo principio activo y forma farmacéutica), y esta diferencia se debe principalmente a que el medicamento de marca refleja el costo de la gran inversión para desarrollarlo (estudios clínicos de eficacia y seguridad) que a diferencia del medicamento genérico no lo precisa (Sánchez *et al.*, 2010). Para realizar una comparación de estos dos tipos de medicamentos e investigar si son intercambiables se recurre a la biodisponibilidad y bioequivalencia promedio (Zapater y Horga, 1999).

La figura 1.1 ilustra un esquema de bioequivalencia.

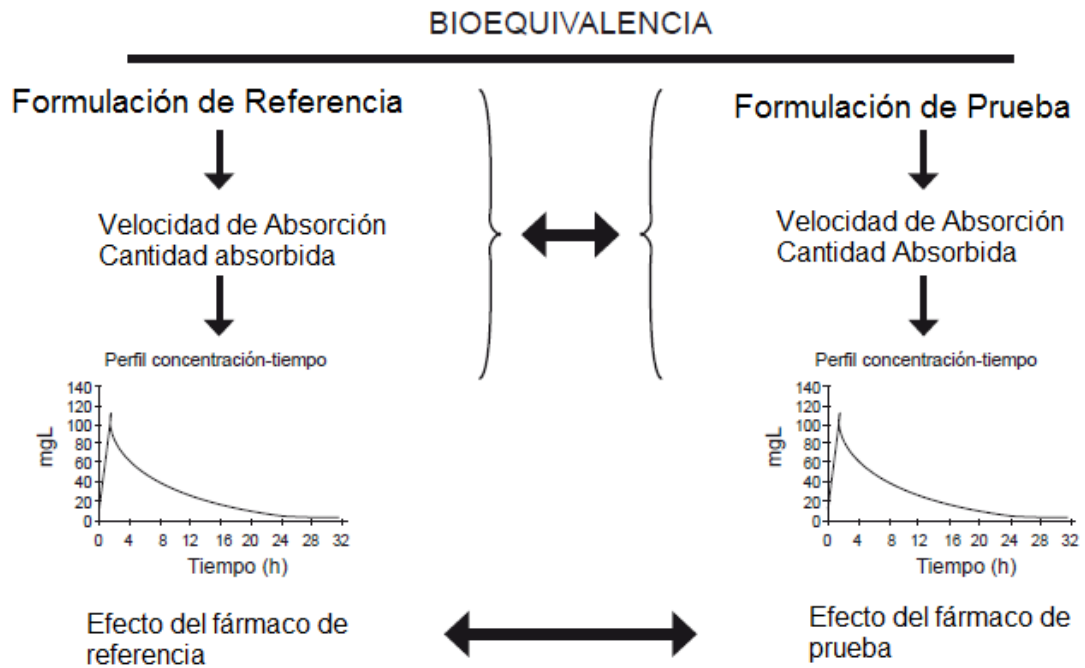


Figura 1.1: Determinación de bioequivalencia.

Adaptado de la Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública, Octubre/Diciembre 2009.

## 1.1. Definiciones

### Biodisponibilidad

La FDA, la define como la velocidad y extensión a la cuál el ingrediente activo se absorbe desde una formulación y llega a estar disponible en el sitio de acción. Para los productos farmacéuticos que no están destinados a ser absorbidos en la sangre, la biodisponibilidad puede evaluarse mediante mediciones que reflejen la magnitud y la extensión para la cuál el ingrediente activo se vuelve disponible en el sitio de acción (FDA, 2003).

La biodisponibilidad de un fármaco refleja la velocidad de absorción y la cantidad del mismo que llega a la biofase de los receptores tisulares, en los que debe ejercer su acción. Si el valor de su biodisponibilidad oral se acerca a la unidad, el fármaco se absorbe bien y sufre escaso metabolismo (poco efecto de primer paso de la barrera hepática). Por el contrario, si su biodisponibilidad es sólo una fracción menor a 1, indica que el fármaco se absorbe peor, o que sufre un metabolismo hepático acusado (García, 2013).

### Bioequivalencia

Dos productos medicinales son bioequivalentes si son equivalentes farmacéuticos o alternativas farmacéuticas, y sus biodisponibilidades luego de la administración de la misma dosis molar son similares en grado tal que sus efectos, con respecto a eficacia y seguridad, serán esencialmente los mismos. Las curvas de concentración plasmática (o en suero, si corresponde) en función del tiempo de los productos comparados no variarán sino dentro de un margen de tolerancia predeterminado como aceptable (EMA, 2001).

La bioequivalencia promedio corresponde a la comparación entre dos o más formulaciones basadas en la velocidad y magnitud de la absorción. “Dos productos medicinales son bioequivalentes si son equivalentes farmacéuticos o alternativas farmacéuticas, y sus biodisponibilidades (BD) luego de la administración de la misma dosis molar son similares en grado tal que sus efectos, con respecto a seguridad y eficacia, serán esencialmente los mismos” (FDA, 2003) y (EMA, 2001).

El término bioequivalencia se refiere a la velocidad y extensión en que el mismo principio activo de dos medicamentos «iguales» alcanza la circulación sistémica. Por ello, la bioequivalencia se cuantifica mediante la determinación de los niveles plasmáticos del fármaco contenido en los dos medicamentos (biodisponibilidad). El estudio suele ser cruzado y consiste en la administración de una sola dosis de cada formulación a un grupo de voluntarios sanos; a

veces, dependiendo de las propiedades farmacocinéticas del principio activo, se requieren múltiples dosis o estudios en el equilibrio estacionario (García, 2013).

### **Equivalente terapéutico**

Un producto medicinal es terapéuticamente equivalente con otro si contiene la misma sustancia activa o grupo activo, y clínicamente muestra la misma eficacia y seguridad que el primer producto, cuya eficacia y seguridad ya han sido establecidas (EMA, 2001).

### **Equivalente farmacéutico**

Los productos medicinales son equivalentes farmacéuticos si contienen la misma cantidad de la misma sustancia activa en las mismas dosificaciones que cumplen los mismos estándares. La equivalencia farmacéutica no necesariamente implica bioequivalencia, ya que diferencias en los excipientes y/o en el proceso de manufactura pueden llevar a más rápida o más lenta disolución y/o absorción (EMA, 2001).

Dos medicamentos se consideran equivalentes farmacéuticos si contienen cantidades idénticas del mismo principio activo, y alternativas farmacéuticas si cada uno de los medicamentos posee en su composición un principio activo idéntico al del otro, aunque no contenga la misma cantidad y formulación (por ejemplo, una sal o un éster). La equivalencia farmacéutica no implica necesariamente bioequivalencia, ya que las diferencias en excipientes o en el proceso de fabricación pueden dar lugar a diferencias en la disolución o en la biodisponibilidad de dos formulaciones orales (García, 2013).

### **Fármaco genérico**

Según la OMS, un medicamento o fármaco genérico es aquel vendido bajo la denominación del principio activo que incorpora, siendo bioequivalente a la marca original, es decir, igual en composición y forma farmacéutica y con la misma biodisponibilidad que el fármaco de referencia. Puede reconocerse porque en el envase del medicamento en lugar de un nombre comercial, figura el nombre de la sustancia que realiza la acción terapéutica seguido del nombre del laboratorio fabricante. Un medicamento genérico puede ser elaborado una vez vencida la patente del medicamento de marca siempre que reúna todas las condiciones de calidad y también debe ofrecer la misma seguridad que cualquier otro medicamento (ISP, 2013).

Un medicamento genérico es un medicamento que contiene un principio

activo ya conocido y previamente desarrollado e inventado por otros. El costo de estos productos genéricos o multifuente debe ser menor que el de sus contrapartidas originales. Los efectos clínicos y el balance riesgo-beneficio de un medicamento no dependen exclusivamente de la actividad farmacológica de la sustancia activa. La demostración de bioequivalencia de los medicamentos genéricos es de gran importancia (Laosa *et al.*, 2009).

### **Fármaco de referencia o innovador**

Un fármaco de referencia es aquel medicamento para el cuál la eficacia y seguridad han sido establecidas. Cuando el producto innovador no se encuentre disponible, el líder del mercado puede ser utilizado como medicamento de referencia, o el que determine la autoridad sanitaria para cada caso. El fármaco de referencia es también llamado fármaco innovador, pues es el medicamento con el cuál se compara el fármaco de prueba (EMA, 2001).

Los medicamentos innovadores, tras su autorización, gozan de un periodo de exclusividad de comercialización gracias a dos mecanismos que son totalmente independientes: la protección que le otorgan las patentes (propiedad industrial) y el periodo de protección de datos que otorgan las agencias de medicamentos. Ambos periodos de protección transcurren en paralelo y son limitados en el tiempo, y el hecho de que a menudo finalicen en distinto momento genera algunas confusiones. Las patentes protegen la innovación por un periodo de 20 años desde su solicitud (no confundir con la fecha de concesión) y se pueden prolongar hasta un máximo de 5 años adicionales con el Certificado Complementario de Protección (García *et al.*, 2010).

## 1.2. Objetivos

### 1.2.1. Objetivo general

El objetivo general en este trabajo de titulación corresponde a la comparación de la bioequivalencia promedio con la bioequivalencia promedio escalada en fármacos de alta variabilidad, para así concluir cuál es la bioequivalencia que logra mejores resultados.

### 1.2.2. Objetivos específicos

1. Investigar las últimas metodologías innovadoras en la determinación de BE en los fármacos de alta variabilidad.
2. Crear una base de datos de los últimos años sobre fármacos de alta variabilidad.
3. Realizar un análisis descriptivo del tipo de fármaco en estudio, para analizar el comportamiento de las métricas farmacocinéticas.
4. Conocer los tamaños muestrales y los diseños experimentales más utilizados en la actualidad, por medio de los expedientes de bioequivalencia otorgados por el ISP.
5. Construir los intervalos de confianza para la bioequivalencia promedio en los fármacos de alta variabilidad.
6. Calcular la bioequivalencia promedio escalada en los fármacos de alta variabilidad.
7. Comparar las metodologías de la bioequivalencia promedio con la bioequivalencia promedio escalada para ver su desempeño.
8. Elaborar un documento técnico para ser entregado al Instituto de Salud Pública de Chile (ISP), con los resultados finales de este trabajo de titulación, para aportar a la reevaluación de este tipo de bioequivalencia promedio sobre estos análisis.



# Capítulo 2

## Marco teórico

### 2.1. Problemática de salud pública en bioequivalencia

#### 2.1.1. Visión del ISP y Ministerio de Salud de Chile

El Instituto de Salud Pública a través del Departamento ANAMED impulsó uno de los proyectos más valiosos para la salud pública del país, la bioequivalencia de los medicamentos, destacada como uno de los ejes centrales en el discurso presidencial de 2010 (ISP, 2014).

La incorporación de las pruebas de bioequivalencia por parte de las autoridades de salud está destinada principalmente a la búsqueda de equidad para mejorar el acceso de medicamentos a la población a través de mecanismos regulados por el ISP, basados en pruebas que aseguran que aquellos medicamentos que son equivalentes al fármaco innovador tengan las mismas características de calidad beneficiando especialmente a la población más necesitada (ISP, 2014).

La política nacional de medicamentos ha establecido las normas en torno a la utilización racional de las alternativas fármaco-terapéuticas existentes, lo que en un concepto amplio incluye desde la selección de medicamentos, hasta la prescripción y utilización de los mismos en los pacientes. En ese contexto, dicho documento político, incorpora la necesidad de implementar estrategias de uso racional de medicamentos en todos los niveles donde se realicen actividades relacionadas con el uso de medicamentos, propiciando la obtención de un uso adecuado, propicio y eficiente de los medicamentos disponibles, optimizando los resultados sanitarios y manejando eficientemente los recursos que se disponen (MINSAL, 2014).

El ISP ha impulsado la regulación sobre la bioequivalencia de medicamentos y ha declarado algunas leyes sobre estos, lo que constituye un gran logro. Sin embargo, el tema es complejo y podría abrirse la posibilidad de hacer algunos estudios que permitan actualizar y perfeccionar esta regulación. Desde el punto de vista regulatorio, se debe generar y publicar notas técnicas que permitan a los profesionales comprender y aplicar en las mejores condiciones la normativa.

### **2.1.2. Visión de la OMS**

La educación cívica de cualquier ciudadano debe abarcar aspectos asociados al medicamento. Hay dos puntos recogidos en un documento de la OMS denominado “Regulación de la efectividad de los medicamentos: asegurando seguridad, eficacia y calidad”, que responden a dos aspectos fundamentales: el porqué los medicamentos deben estar sujetos a una regulación y como estos deben regularse. Al respecto, el documento resume en estos dos puntos lo fundamental:

#### **1. Por qué los medicamentos deben regularse**

El uso de medicamentos inefectivos, de baja calidad o perjudiciales para la salud, puede provocar un fracaso terapéutico, una resistencia al fármaco o la muerte. Estos medicamentos provocan también un debilitamiento en la confianza en el sistema de salud, en los profesionales de salud, en los laboratorios farmacéuticos y en los distribuidores. El dinero gastado en estos medicamentos se desperdicia tanto por los consumidores como por el gobierno. Por lo tanto, el gobierno necesita establecer autoridades regulatorias que sean capaces de asegurar que la fabricación, el comercio y el uso de los medicamentos serán efectivamente regulados, para proteger y promover la salud pública (WHO, 2003).

#### **2. ¿Qué es la regulación de los medicamentos?**

La regulación de los medicamentos corresponde a una serie de procedimientos que apoyan, refuerzan y protegen la salud pública. Estas actividades o procedimientos varían según el país, pero generalmente en todos ellos incluye el listado que se presenta a continuación:

- La concesión de licencias para la fabricación, importación, exportación, distribución, promoción y publicidad de los medicamentos.
- La evaluación de la seguridad, eficacia y calidad de los medicamentos, y la emisión de la autorización de comercialización.

- Inspección y vigilancia de los fabricantes, importadores, mayoristas y distribuidores de medicamentos.
- Control y supervisión de la calidad de los medicamentos en el mercado.
- El control de la promoción y publicidad de los medicamentos.
- Monitoreo de las reacciones adversas a los medicamentos.
- Proporcionar información independiente sobre medicamentos para los profesionales y el público.

(WHO, 2003).

Todo aquel que sea consumidor de algún medicamento, o la población en general, debe tener una mayor educación respecto de los medicamentos, la cuál debe realizarse desde etapas tempranas en la educación. Es por esto que debe entenderse la causa y el funcionamiento de la regulación de los medicamentos.

### **2.1.3. Diferentes visiones profesionales**

Hay diferentes entidades que reúnen a los profesionales farmacéuticos y que engloban una diversidad de opiniones que enriquecen y complementan la temática de la bioequivalencia. A continuación se resumen algunas de ellas.

#### **Colegio Farmacéutico**

El Colegio Farmacéutico y Bioquímico de Chile, es una entidad gremial que reúne a un gran número de profesionales en Chile. Este gremio constituye un referente de opinión y hace llegar sus opiniones a las autoridades de salud. En particular, la nueva Ley del Medicamento, tiene algunos reparos que en forma indirecta se relacionan fuertemente con el tema de la BE. En el mes de enero, del año actual, emitió una declaración pública cuyo contenido se resume a continuación:

“Declaración Pública:

Frente a la campaña emprendida por el Ministro de Salud en diversos medios de comunicación en relación con la publicación reciente de la denominada Ley del Medicamento, se debe puntualizar algunos aspectos, tales como:

1. La venta fraccionada en las farmacias no se puede realizar en tanto no se definan por la vía de la dictación de un reglamento (que prevé la

ley) algunos aspectos técnicos relacionados con la mantención de la calidad y seguridad, tales como: medidas que eviten la contaminación y la pérdida de trazabilidad, entre otras materias.

2. La propaganda gubernamental alude a que habrá mayor fiscalización. Si bien este Colegio comparte esta necesidad es menester aclarar que, al no cumplirse la promesa de la creación de la Agencia Nacional de Medicamentos (ANAMED) acorde con las responsabilidades que esta ley le encomienda, no existen en este momento la estructura, los cargos y el financiamiento necesario para ello.
3. Respecto de los Almacenes Farmacéuticos (AF), se hace notar que éstos han cambiado de entidad, al no tener restricción geográfica y con menos requisitos técnicos, podrían funcionar, como declaró el Ministro de esa época, “en los supermercados, Pronto Copec, almacenes, zapaterías”.

La nueva ley establece que la dispensación de la receta sólo puede hacerse en farmacias bajo la supervisión de un profesional químico farmacéutico, por lo cuál en los AF sólo se pueden expender medicamentos que no requieran receta médica. Desconocer esto, es subvalorar todos los esfuerzos de años en Salud Pública para el control del uso de antibióticos y productos estupefacentes y sicotrópicos, en aras del libre mercado y sin ninguna ganancia en términos de acceso ya que la otra función de abastecer a zonas remotas hoy la harán las farmacias móviles y en su defecto los establecimientos públicos de salud.

(Colegio de químico farmacéuticos y bioquímicos de Chile AG, 2014).

Conceptos asociados a que el medicamento es un bien social, que la dispensación de un medicamento debiera ser tomada en cuenta en forma más cuidadosa con la participación de profesionales, son problemas que aun parecen lejos de resolverse. Se han visto mejoras, pero se requiere de una actitud más comprometida y de verdadera voluntad política, para buscar consensos con las diferentes visiones de esta problemática.

La visión crítica del “Colegio de químico farmacéuticos y bioquímicos de Chile AG” apunta a algunos puntos delicados que la ley no clarifica y que afectan a la regulación de BE. En ella, la venta fraccionada y la falta de fiscalización parecen ser los más críticos. La venta fraccionada permitirá a las farmacias “fraccionar” una forma farmacéutica, pero su manejo sin las instalaciones adecuadas podrían alterar la seguridad y eficacia de esa formulación. La falta de fondos para fiscalizar es un tema complicado, son muchas las necesidades en el área de la salud pública pero el presupuesto destinado

a este ítem es insuficiente.

### **Universidad de Valparaíso**

Un grupo importante de farmacéuticos del ámbito académico aportan otra visión en relación a las regulaciones que afectan al medicamento y en forma indirecta a la BE. En particular se podría destacar la visión de los docentes de la facultad de farmacia de la Universidad de Valparaíso, cuyo contenido se resume a continuación:

Declaración pública sobre la ley nacional de fármacos e insumos médicos, publicado en enero de 2013, refleja tres prioridades:

#### **■ Acceso**

La información entregada por los distintos medios de comunicación, da a entender que la falencia que se presenta en Chile hoy en relación con el acceso a los medicamentos es un gran problema del sector privado, el que concentra a menos del 30 % de la población, y del cuál las cadenas de farmacias son parte. Hoy por hoy, corresponde al Estado velar por este acceso para los ciudadanos adscritos a FONASA (que representan más del 70 % de la población), a través del sistema de atención primaria de salud (consultorios).

#### **■ Intercambiabilidad**

Este aspecto está estrechamente ligado a la certificación de bioequivalencia de un producto respecto del medicamento innovador. La intercambiabilidad se refiere a la posibilidad de que el farmacéutico pueda reemplazar un medicamento de marca por un genérico que sea equivalente en su efecto, es decir, bioequivalente. Sin embargo, para que este intercambio se pueda efectuar, se requiere de una política que asegure la existencia y el stock necesario de productos bioequivalentes, certificados por laboratorios independientes y cuya producción sea debidamente planificada para cubrir eficientemente las necesidades de la población.

#### **■ Liberación de la venta**

Con respecto a la venta libre de medicamentos, existe un error generalizado en la opinión pública al llamar OTC a medicamentos que, de acuerdo con el proyecto, se dispondrán en góndolas. Desde el punto de vista técnico, existe una diferencia entre una política de OTC (del inglés “Over the counter”, o medicamentos dispuestos en góndolas) y la condición de venta directa (sin receta) que hoy tenemos en Chile. En el caso de la primera, cuando un medicamento es declarado OTC, se imponen restricciones en las presentaciones

disponibles para la venta al público, con el fin de minimizar potenciales daños a la salud de quienes lo consumen. Algunas de estas restricciones incluyen: disminución de la dosis, disminución del número de unidades del medicamento por envase y limitación de las unidades que las personas pueden adquirir en un local comercial; además, son envasados en dispositivos especiales, a prueba de niños.

(Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Farmacia, Universidad de Valparaíso, 2014).

La visión del mundo académico es de gran importancia, pues da cuenta de los tres aspectos que desde el punto de vista de la academia podrían tener una mayor prioridad y trascendencia en la salud pública a nivel nacional. Tiene la riqueza de abordar tres acciones (acceso, intercambiabilidad y liberación de la venta) a tener en cuenta para mejorar y enriquecer el marco de esta regulación.

### **Otra visión del problema**

Existe otra agrupación de farmacéuticos independientes que da una visión diferente al problema de la BE y a la venta de medicamentos en Chile. Aporta otra visión que perfectamente podría enriquecer mucho más la discusión sobre las políticas relacionadas con la regulación de BE en Chile.

Al respecto se puede destacar una opinión resumida de uno de los responsables del grupo “Políticas farmacéuticas”, que complementa la discusión sobre el medicamento.

*“Cuando se habla de bioequivalencia (BE), se debe entender como una herramienta científica, útil e importante para poder establecer la intercambiabilidad entre medicamentos que provienen de múltiples fabricantes (primero desde un laboratorio innovador) y que poseen una misma formulación en cuanto al principio activo contenido, vía de administración y dosis.*

*Mucho énfasis se ha puesto sobre la baja de precios individuales que significará la bioequivalencia para el mercado. Sin embargo, este efecto será mucho más claro a nivel del gasto (Estado y personas) y será mayor en la medida que se promuevan los productos genéricos (sin marca) como genéricos intercambiables.*

*No obstante lo anterior y los problemas que ha debido enfrentar esta política, es claro que la bioequivalencia es un gran avance para un mercado donde abundan los medicamentos multifuente, los incentivos a la prescripción, las*

*asimetrías de información y otros elementos distorsionantes, que en compañía de otras medidas puede resultar en un gran beneficio para el sistema”.*

(Morales, 2014).

Como se aprecia, estas visiones diferentes sobre la importancia de regular en BE y su directa influencia en las políticas de venta de medicamentos, son complejas. Es importante darlas a conocer, pues permite ampliar el conocimiento y tener una opinión más cabal y completa de esta problemática.

## 2.2. Diseño de un estudio de bioequivalencia

El diseño de un estudio de BE requiere cumplir con algunas condiciones:

1. La mayoría de los estudios de BE se realizan en un rango de 18 a 24 voluntarios (según EMA), los que cuentan con las siguientes características:
  - Voluntarios sanos (EMA, FDA, ANAMED)
  - Tener entre 18 a 55 años (ANAMED)
  - Poseer un índice de masa corporal de 18.5 y 30 kg/m<sup>2</sup> (EMA)
  - Ambos sexos (EMA, FDA, ANAMED).
2. Reciben dosis únicas de los productos genéricos o productos de referencia (EMA, FDA, ANAMED).
3. Se realiza a través de un diseño cruzado  $2 \times 2$  (dos periodos y dos secuencias)(EMA, FDA, ANAMED).
4. Algunos de los criterios de exclusión de los participantes en un estudio de BE son los siguientes:
  - Antecedentes de enfermedad relevante en los últimos tres meses.
  - Antecedentes de alergias medicamentosas.
  - Antecedentes de reacciones adversas a fármacos similares.
  - Antecedentes de alcoholismo o drogadicción.
  - Tratamiento farmacológico actual o reciente.
  - Fumador (seis semanas previas).
  - Consumo de bebidas estimulantes.
  - Consumo de otros fármacos.

- Cualquier situación que pudiera suponer un aumento del riesgo o dificultar la interpretación de los resultados.

(Laosa *et al.*, 2009).

## 2.3. Cálculo del tamaño muestral

El número de voluntarios necesarios en un estudio de BE se calcula fundamentalmente a partir de la variabilidad interindividual descrita para las principales métricas farmacocinéticas de evaluación de la biodisponibilidad (áreas bajo la curva y concentraciones máximas), que se puede obtener a partir de estudios piloto, de ensayos clínicos previos o de datos disponibles en la literatura científica (Laosa *et al.*, 2009).

Por regla general, cuanto mayor es la variabilidad de las métricas farmacocinéticas, mayor es el número de participantes. El tamaño muestral de los ensayos de bioequivalencia es el principal factor del que depende la probabilidad de concluir erróneamente que dos formulaciones sean bioequivalentes. Según la EMA, el número de voluntarios, nunca debería ser inferior a 12, aunque lo habitual es sobrepasar este número hasta un tamaño de 24 o 36 participantes (Laosa *et al.*, 2009).

A continuación se muestran los tamaños muestrales descritos por literatura referentes a diseños replicados de 3 y 4 periodos, de acuerdo al criterio de la FDA y de la EMA, donde:

- CV: Corresponde al coeficiente de variación intrasujeto
- RMG: Corresponde a la razón de media geométrica.



Para el caso de diseños replicados de 3 periodos según criterio de la FDA, su tamaño muestral es:

CV	Potencia al 80 % RMG				Potencia al 90 % RMG			
	0.9	1.0	1.1	1.2	0.9	1.0	1.1	1.2
30 %	45	21	39	> 201	65	26	55	> 201
35 %	37	22	34	109	51	28	47	186
40 %	33	22	31	104	54	28	43	> 201
45 %	31	22	29	116	43	28	40	> 201
50 %	30	22	28	133	45	28	40	> 201
55 %	30	22	28	172	50	28	42	> 201
60 %	31	23	30	> 201	54	30	50	> 201
65 %	32	24	31	> 201	61	32	53	> 201
70 %	35	25	31	> 201	68	34	61	> 201
75 %	38	26	34	> 201	80	37	68	> 201
80 %	40	27	37	> 201	83	41	75	> 201

Cuadro 2.1: Tamaños muestrales para los requisitos de la FDA en los estudios de 3 periodos.

Adaptado de artículo de Tothfalusi y Endrenyi, 2012.

Para el caso de diseños replicados de 4 periodos según criterio de la FDA, su tamaño muestral es:

CV	Potencia al 80 % RMG				Potencia al 90 % RMG			
	0.9	1.0	1.1	1.2	0.9	1.0	1.1	1.2
30 %	30	15	27	200	44	18	38	> 201
35 %	26	16	24	79	38	20	34	128
40 %	24	16	22	72	32	20	30	158
45 %	23	16	21	82	32	20	30	181
50 %	22	17	21	99	32	20	30	> 201
55 %	22	17	21	116	34	21	31	> 201
60 %	23	17	21	124	38	22	33	> 201
65 %	24	18	22	155	44	23	35	> 201
70 %	24	18	23	167	46	24	43	> 201
75 %	26	29	24	186	53	26	48	> 201
80 %	29	20	25	> 201	60	28	51	> 201

Cuadro 2.2: Tamaños muestrales para los requisitos de la FDA en los estudios de 4 periodos.

Adaptado de artículo de Tothfalusi y Endrenyi, 2012.

En los cuadros 2.1 y 2.2 se muestran los tamaños muestrales para un diseño replicado de 3 y 4 periodos respectivamente, según el criterio de la FDA. En ambos casos se observa que los tamaños muestrales mínimos corresponden a aquellos donde su razón de media geométrica (RMG) es igual a 1. Se observa también que los tamaños muestrales aumentan al incrementar la potencia de un 80 % a un 90 %.

Cabe destacar también, que los tamaños muestrales son menores en los diseños replicados de 4 periodos.

Para el caso de diseños replicados de 3 periodos según criterio de la EMA, su tamaño muestral es:

CV	Potencia al 80 % RMG				Potencia al 90 % RMG			
	0.9	1.0	1.1	1.2	0.9	1.0	1.1	1.2
30 %	53	22	45	> 201	74	28	62	> 201
35 %	51	25	45	> 201	70	32	63	> 201
40 %	44	27	42	139	61	33	57	> 201
45 %	40	27	37	124	55	33	51	> 201
50 %	40	28	37	133	55	34	51	> 201
55 %	42	30	40	172	59	37	53	> 201
60 %	46	33	44	> 201	64	41	60	> 201
65 %	53	37	50	> 201	72	46	67	> 201
70 %	58	41	56	> 201	82	52	76	> 201
75 %	67	46	62	> 201	93	58	85	> 201
80 %	72	51	68	> 201	100	63	93	> 201

Cuadro 2.3: Tamaños muestrales para los requisitos de la EMA en los estudios de 3 periodos.

Adaptado de artículo de Tothfalusi y Endrenyi, 2012.

Para el caso de diseños replicados de 4 periodos según criterio de la EMA, su tamaño muestral es:

CV	Potencia al 80 % RMG				Potencia al 90 % RMG			
	0.9	1.0	1.1	1.2	0.9	1.0	1.1	1.2
30 %	35	15	30	> 201	49	19	42	> 201
35 %	34	18	31	140	48	22	43	> 201
40 %	31	18	28	98	42	23	39	165
45 %	29	19	27	90	40	24	37	181
50 %	28	20	27	100	39	25	36	> 201
55 %	30	21	28	116	41	26	38	> 201
60 %	32	23	31	124	45	29	41	> 201
65 %	37	26	33	155	51	32	46	> 201
70 %	40	28	38	167	55	36	52	> 201
75 %	45	32	42	186	62	39	58	> 201
80 %	50	35	46	> 201	69	45	62	> 201

Cuadro 2.4: Tamaños muestrales para los requisitos de la EMA en los estudios de 4 periodos.

Adaptado de artículo de Tothfalusi y Endrenyi, 2012.

Es importante destacar que los tamaños muestrales cambian alrededor de un  $CV = 30\%$  cuando se siguen los requisitos de EMA (es decir, con la constante de regulación de  $k = 0,76$  o  $\sigma_0 = 0,294$ ), en otras palabras, sus tamaños muestrales no son los mismos en relación a los que dicta el criterio de la FDA.

En los Cuadros 2.3 y 2.4 se muestran los tamaños muestrales para un diseño replicado de 3 y 4 periodos respectivamente, según el criterio de la EMA. Al igual que en el criterio de la FDA, los tamaños muestrales mínimos corresponden a aquellos donde su razón de media geométrica (RMG) es igual a 1, ya sea en los diseños replicados de 3 y 4 periodos. Se observa también que los tamaños muestrales aumentan al incrementar la potencia de un 80 % a un 90 %.

Al igual como ocurre con el criterio de la FDA, los tamaños muestrales son menores en los diseños replicados de 4 periodos con respecto a los de 3 periodos.

Al comparar ambos criterios (FDA y EMA), se observa que los requisitos de la FDA son más favorables en comparación con el criterio de la EMA, ya que como se observa en los cuadros 2.1, 2.2, 2.3 y 2.4 el criterio de la FDA supone una menor cantidad de sujetos en comparación con el criterio de la EMA. Sin embargo, el razonamiento estadístico apoya las recomendaciones de la EMA.

## 2.4. Hipótesis estadísticas para los estudios de bioequivalencia

Desde un punto de vista regulatorio, al demostrar bioequivalencia entre dos formulaciones, la prioridad es la seguridad del paciente. Por lo tanto, el procedimiento estadístico parte de un supuesto básico diametralmente opuesto al empleado en los procedimientos convencionales (Formentini, 2013).

Los procedimientos estadísticos empleados corrientemente son de tipo conservador, es decir, que parten del supuesto básico o hipótesis nula ( $H_0$ ) de que los grupos a comparar pertenecen a la misma población, en otras palabras, que no son diferentes. Por lo tanto, el procedimiento estadístico busca hallar la evidencia experimental suficiente para rechazar esta hipótesis nula y así no rechazar la hipótesis alternativa ( $H_1$ ) de que los grupos son distintos (Formentini, 2013).

En contraposición a esto y en vista de preservar la seguridad del paciente, los procedimientos estadísticos para demostrar bioequivalencia parten del supuesto básico o  $H_0$  de que las formulaciones de prueba T y de referencia R son diferentes. Por lo tanto el procedimiento estadístico consiste en hallar evidencia experimental suficiente para demostrar que las formulaciones de prueba T y de referencia R son similares ( $H_1$ ) en tal grado que el riesgo para

el paciente sea menor al 5 % (Formentini, 2013).

El planteamiento de las hipótesis en un estudio de bioequivalencia se muestra a continuación:

- Hipótesis nula

$$H_{01} : \mu_T - \mu_R \leq \theta_1$$

$$H_{02} : \mu_T - \mu_R \geq \theta_2$$

La hipótesis nula expresa la condición de bioinequivalencia.

- Hipótesis alternativa

$$H_{11} : \mu_T - \mu_R > \theta_1$$

$$H_{12} : \mu_T - \mu_R < \theta_2$$

La hipótesis alternativa expresa la condición de bioequivalencia.

(Formentini, 2013).

Sea,

- $\mu_T$ : Media poblacional de la formulación de prueba
- $\mu_R$ : Media poblacional de la formulación de referencia
- $\theta_1$ : Límite inferior (- 20 %  $\mu_R$ )
- $\theta_2$ : Límite superior (+ 20 %  $\mu_R$ ).

Se postula que  $H_0$  y  $H_1$  son las hipótesis nula y alternativa, respectivamente, para demostrar bioequivalencia y  $\theta_1$  con  $\theta_2$ , son los límites inferior (- 20 %  $\mu_R$ ) y superior (+ 20 %  $\mu_R$ ) dentro de los cuales debe estar comprendido el intervalo de confianza de la diferencia de medias de las formulaciones prueba y referencia (IC del 90 % para  $\mu_T - \mu_R$ ), transformadas previamente a logaritmo (Sección 2.8) (Formentini, 2013).

El estudio de biodisponibilidad permite el cálculo de variadas métricas farmacocinéticas, pero el estudio de bioequivalencia considera sólo las áreas

bajo la curva ( $ABC$ ) y las concentraciones máximas ( $C_{max}$ ). Para demostrar bioequivalencia se utilizan estas dos métricas y luego se aplican pruebas estadísticas paramétricas. La EMA propuso la prueba de Shuirmann, llamada también *two one side test* (TOST), mientras que la FDA propuso el empleo del test del intervalo de confianza al 90 %. Ambos procedimientos dan resultados similares, de manera que se pueden utilizar indistintamente y en la práctica se informan los resultados de las 2 pruebas (Formentini, 2013).

## 2.5. Métricas farmacocinéticas

El objetivo de las curvas de concentración plasmáticas es conocer hasta qué punto se solapan las curvas del fármaco genérico y del fármaco de referencia con el que se compara. Las métricas farmacocinéticas más importantes a considerar son: el área bajo la curva ( $ABC$ ); que indica el grado de absorción, la concentración plasmática máxima ( $C_{max}$ ); que depende de la velocidad y del grado de absorción, y el tiempo requerido para alcanzar la concentración máxima ( $t_{max}$ ); que depende de la rapidez de la absorción.

Estas métricas son:

- $C_{max}$ : Concentración plasmática máxima, obtenida directamente de los datos (ANAMED, 2005).
- $t_{max}$ : Tiempo para alcanzar el peak de la concentración máxima, obtenido directamente de los datos (ANAMED, 2005).
- $ABC_{0 \rightarrow t}$ : Área bajo la curva desde tiempo cero a tiempo  $t$ , medida hasta la última concentración cuantificada (ANAMED, 2005).
- $ABC_{0 \rightarrow \infty}$ : Área bajo la curva desde tiempo cero a tiempo infinito, en que:

$$ABC_{0 \rightarrow \infty} = ABC_{0 \rightarrow t} + C_t / \lambda z$$

donde,

- $C_t$ : Última concentración de fármaco cuantificada
- $\lambda z$ : Constante de velocidad de eliminación terminal, calculada de acuerdo a un método apropiado.

(ANAMED, 2005).

De las métricas necesarias para un estudio de ABE, las métricas  $ABC_{0 \rightarrow t}$  y  $ABC_{0 \rightarrow \infty}$ , permiten conocer la cantidad de droga absorbida en el organismo, y  $C_{max}$  indica la velocidad a la que el fármaco se absorbe y llega a la circulación sistémica (Figura 2.1).

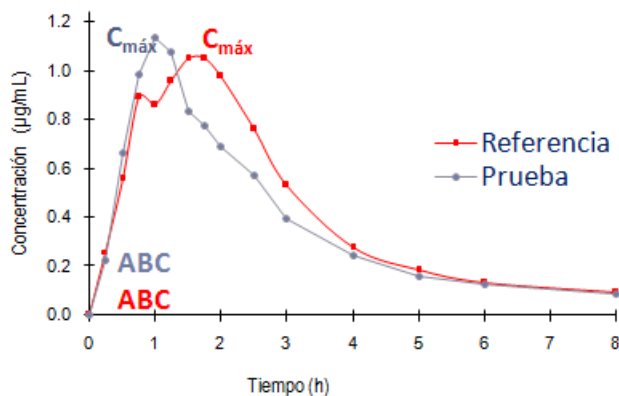


Figura 2.1: Curvas de concentración plasmática de las formulaciones de referencia y de prueba.

Adaptado de Sánchez *et al.*, 2008.

Estas dos métricas farmacocinéticas caracterizan la biodisponibilidad de un principio activo, esto es, la velocidad y la magnitud con la que un principio activo es absorbido desde un producto farmacéutico y está disponible en su lugar de acción. Su cálculo se realiza midiendo las concentraciones del fármaco en una matriz biológica fácilmente accesible, generalmente en sangre, ya que no suele ser posible medirlas en el lugar de acción. Como medida de la cantidad de fármaco absorbido se utiliza el área bajo la curva concentración-tiempo, y como indicador de la velocidad de absorción se mide la concentración máxima ( $C_{max}$ ) alcanzada en la curva concentración-tiempo y el tiempo que tarda en alcanzarse ( $t_{max}$ ).

Las agencias reguladoras (FDA, EMA y Norma chilena) destacan como las métricas farmacocinéticas más relevantes:

- Área bajo la curva de tiempo cero al tiempo  $t$  ( $ABC_{0 \rightarrow t}$ ).
- Área bajo la curva de tiempo cero al tiempo infinito ( $ABC_{0 \rightarrow \infty}$ ).
- Vida media de eliminación del fármaco ( $Ke$ ).
- Concentración plasmática máxima ( $C_{max}$ ).

- Tiempo en que aparece esta concentración máxima  $t_{max}$ .

Las métricas farmacocinéticas  $ABC_{0 \rightarrow t}$  y  $ABC_{0 \rightarrow \infty}$  permiten conocer la cantidad de droga absorbida en el organismo, y  $C_{max}$  con  $t_{max}$ , indican la velocidad a la que el fármaco se absorbe y llega a la circulación sistémica.

En el caso de la demostración de ABE de  $t_{max}$ , las agencias en general son menos estrictas en exigirlo, a menos que el fármaco se libere rápidamente del excipiente o exista el riesgo de alcanzar un peak de concentración plasmática tóxica (ANAMED, 2005).

Existe un problema importante en la métrica indicadora de la velocidad de absorción. Tradicionalmente  $t_{max}$  y  $C_{max}$  representan en parte este fenómeno, sin embargo,  $t_{max}$  tiene la gran desventaja de su alta dependencia de la frecuencia de muestreo y  $C_{max}$  es una medida mixta que no solo representa a la velocidad de absorción sino también a la extensión o cantidad de droga absorbida. A pesar de este inconveniente,  $C_{max}$  sigue siendo la métrica farmacocinética crítica para evaluar algún efecto adverso potencial en ciertos medicamentos y en conjunto con  $t_{max}$  proporcionan información clínica muy importante en términos de la velocidad de absorción (Tothfalusi *et al.*, 2001).

Las relaciones entre las variaciones de las métricas farmacocinéticas y métricas de BE no han sido estudiadas sistemáticamente. Endrenyi *et al.* (1991), notó que, en teoría,  $C_{max}$  depende de la velocidad y del grado de absorción, mientras que  $ABC$  depende sólo de la última. La expectativa teórica supone que las variabilidades intrasujeto de la medida relativa de absorción y la depuración de  $C_{max}$  se compensen cuando la métrica se divida por las  $ABC$ , es decir, teniendo en cuenta  $C_{max}/ABC$  (Tothfalusi *et al.*, 2009).

## 2.6. Diseño cruzado o *crossover* $2 \times 2$

El diseño requerido por la mayoría de las agencias reguladoras para realizar un estudio de bioequivalencia corresponde a un diseño cruzado  $2 \times 2$ , el cuál corresponde a dos secuencias y a dos periodos.

Un diseño cruzado es un diseño de bloques al azar en el que cada bloque recibe más de una formulación de un fármaco en diferentes periodos. Un bloque puede ser un sujeto o grupo de sujetos. El o los sujetos en cada bloque reciben una secuencia diferente de formulaciones. Un diseño cruzado se llama un diseño cruzado completo si cada secuencia contiene cada una de las formulaciones. Para un diseño cruzado, no es necesario que el número de formulaciones en cada secuencia sea mayor o igual al número de formulaciones

para ser comparados. Se referirá a un diseño cruzado como un diseño cruzado  $g \times p$ , si hay “ $g$ ” secuencias o formulaciones administradas en “ $p$ ” diferentes periodos. Para los estudios de biodisponibilidad y bioequivalencia, el diseño cruzado es visto favorablemente por la FDA y otras agencias reguladoras en el mundo, tales como la EMA, debido a las siguientes ventajas:

1. Cada sujeto sirve como su propio control. Permite una comparación intra sujeto entre formulaciones.
2. Se elimina la variabilidad interindividual de la comparación entre las formulaciones.
3. Una aleatorización adecuada proporciona estimaciones insesgadas de las diferencias (o razones) de las formulaciones.

(Chow y Liu, 2009).

Un estudio de BE debe ser diseñado de tal modo que el efecto de la formulación (efecto del tratamiento) pueda ser distinguida de otros efectos. La situación estándar de comparar la formulación de prueba (T) con la formulación de referencia (R), con 2 periodos y 2 secuencias, es el diseño RT/TR. En la secuencia 1, los voluntarios reciben la formulación de referencia en el periodo 1, y la formulación de prueba en el periodo 2, mientras que en la secuencia 2, los voluntarios reciben la formulación de prueba en el periodo 1, y la formulación de referencia en el periodo 2. Entre ambos periodos se encuentra el tiempo de depuración, el cuál debe ser lo suficientemente largo para asegurar que el efecto de la formulación anterior haya sido eliminado (Hauschke *et al.*, 2007).

Es importante destacar los conceptos de tiempo de depuración (o *washout*) y el efecto de arrastre (o *carryover*) en un diseño cruzado, porque la presencia de los efectos de arrastre por lo general tienen una influencia en la inferencia estadística de biodisponibilidad entre las formulaciones. El tiempo de depuración se define como el periodo de descanso entre dos periodos de tratamiento para que el efecto de una formulación administrada en un periodo de tratamiento no se traslade al siguiente periodo de evaluación. En un diseño cruzado, el tiempo de depuración debe ser lo suficientemente largo para que los efectos de formulación desaparezcan de manera que no haya efecto de arrastre de un periodo de tratamiento al siguiente. El tiempo de depuración depende de la naturaleza del fármaco (Chow y Liu, 2009).

Si un fármaco tiene una vida media larga o si el tiempo de depuración entre los periodos de tratamiento es demasiado corto, el efecto del fármaco



(efecto de tratamiento) podría persistir después del término del periodo de dosificación. En este caso, es necesario distinguir la diferencia entre el efecto de tratamiento y el efecto de arrastre. El efecto de tratamiento es el efecto que un medicamento tiene durante el periodo en que se administra el fármaco, mientras que el efecto de arrastre es el efecto del fármaco que persiste después del término del periodo de dosificación (Chow y Liu, 2009).

El diseño cruzado consiste en un diseño en donde:

- Se comparan dos o más grupos de formulaciones. El más utilizado en BE es el diseño cruzado de  $2 \times 2$ .
- A cada voluntario se le asigna de manera aleatoria algunas secuencias de administración de los medicamentos, los cuales serán distribuidos en cada periodo.
- Cada sujeto sirve como su propio control.
- La evaluación de la bioequivalencia se basa sobre la variabilidad intra-sujeto.
- Se requieren menos sujetos que en otros diseños para proveer el mismo nivel de exactitud y potencia.

En la figura 2.2 se presenta un esquema de un diseño cruzado  $2 \times 2$ :



	Periodo 1 Tiempo de la 1ra. Toma de muestra	Periodo 2 Tiempo de la 2da. Toma de muestra
Secuencia 1 Voluntarios asignados al azar (por ej. 1 3 5 7 10)	Fármaco de referencia	Fármaco de prueba
	 Tiempo de depuración	
Secuencia 2 Voluntarios asignados al azar (por ej. 2 4 6 8 9)	Fármaco de prueba	Fármaco de referencia
	 Efecto de arrastre	

Figura 2.2: Diseño cruzado de  $2 \times 2$  (dos periodos y dos secuencias).

donde se muestran los dos periodos, las dos secuencias, el tiempo de depuración, el posible efecto de arrastre, y los voluntarios elegidos al azar. El tiempo de depuración y el efecto de arrastre se abordan en la sección 2.6.2.

### 2.6.1. Modelo estadístico asociado al diseño cruzado

En un diseño cruzado, debido a que el efecto de tratamiento puede ser confundido con el efecto de arrastre, se requiere eliminar el efecto de arrastre de la comparación si es posible.

Para tener en cuenta estos efectos, se utiliza el siguiente modelo asociado al diseño cruzado de  $2 \times 2$ :

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

donde:

- $Y_{ijk}$  corresponde a la respuesta (por ejemplo,  $ABC$ ) del  $i$ -ésimo sujeto en el  $j$ -ésimo periodo en la  $k$ -ésima secuencia
- $\mu$  es la media general de la métrica farmacocinética
- $S_{ik}$  es el efecto aleatorio del  $i$ -ésimo sujeto en la  $k$ -ésima secuencia, donde  $i = 1, 2, \dots, g$
- $P_j$  es el efecto fijo en el  $j$ -ésimo periodo, donde  $j = 1, \dots, p$  y  $\sum_j P_j = 0$
- $F_{(j,k)}$  es el efecto fijo del tratamiento en la  $k$ -ésima secuencia, la cuál es administrada en el  $j$ -ésimo periodo, y  $\sum F_{(j,k)} = 0$
- $C_{(j-1,k)}$  es el efecto de arrastre de la formulación en la  $k$ -ésima secuencia, la cuál es administrada en el periodo  $j - 1$ , donde  $C_{(0,k)} = 0$ ; y  $\sum C_{(j-1,k)} = 0$
- $e_{ijk}$  es el error aleatorio del  $i$ -ésimo sujeto en el  $j$ -ésimo periodo y en la  $k$ -ésima secuencia; donde  $e_{ijk} \sim N(0, \sigma_e^2)$ .

(Chow y Liu, 2009).

Se asume que  $S_{ik}$  se distribuye de forma iid (independiente e idénticamente distribuida) con media 0 y varianza  $\sigma_s^2$ , y  $e_{ijk}$  se distribuye de forma independiente con media 0 y varianza  $\sigma_t^2$ , donde  $t = 1, 2, \dots, L$  (el número de formulaciones que deben compararse).  $S_{ik}$  y  $e_{ijk}$  se suponen mutuamente independientes. La estimación de  $\sigma_s^2$  es generalmente utilizada para explicar la variabilidad entre sujetos, y las estimaciones de  $\sigma_t^2$  se utilizan para evaluar la variabilidad intra-sujeto para la  $t$ -ésima formulación (Chow y Liu, 2009).

### 2.6.2. Efectos del modelo estadístico asociados al diseño cruzado

Cuando se realiza un estudio de bioequivalencia, las diferencias encontradas entre las formulaciones pueden ser debidas a diferentes factores. Estos corresponden a los efectos asociados al modelo, los cuales se presentan a continuación.

#### **Efecto de arrastre o *carryover***

Se refiere al efecto que persiste del fármaco administrado anteriormente en el periodo siguiente. Producido principalmente cuando no ha habido un tiempo de depuración adecuado del fármaco administrado entre periodos evaluados (Senn, 2002).

La presencia de los efectos de arrastre por lo general tiene una influencia en la inferencia estadística de biodisponibilidad entre las formulaciones. El tiempo de depuración se define como el periodo de descanso entre dos periodos de tratamiento para que el efecto de una formulación administrada en un periodo de tratamiento no se traslade al siguiente. En un diseño cruzado, el tiempo de depuración debe ser lo suficientemente largo para que los efectos de los tratamientos desaparezcan de manera que no haya efecto de arrastre de un periodo de tratamiento al siguiente. El tiempo de depuración depende de la naturaleza del fármaco. Un tiempo de depuración adecuado debe ser lo suficientemente largo para eliminar cualquier rastro existente que influya en la biodisponibilidad de la línea de base (por lo general, al menos se debería considerar cinco veces la eliminación del ingrediente activo en la sangre, resto terapéutico o su metabolito, o el decaimiento del efecto farmacológico inmediato desde el último punto en el tiempo de muestreo del periodo anterior)(Chow y Liu, 2009).

Si un fármaco tiene una vida media larga o si el tiempo de depuración entre los periodos de tratamiento es demasiado corto, el efecto del tratamiento podría persistir después del periodo de dosificación y la medición en este periodo estaría alterada. En este caso, es necesario distinguir la diferencia entre el efecto del tratamiento y los efectos de arrastre. El efecto del tratamiento es el efecto que un medicamento tiene durante el periodo en que se administra el fármaco, mientras que el efecto de arrastre es el efecto del fármaco que persiste después del final del periodo de dosificación. En estudios de biodisponibilidad y bioequivalencia, es poco probable que un efecto de tratamiento se traslade más de un periodo de tratamiento, porque por lo general, se considera un tiempo de depuración adecuado (Chow y Liu, 2009).

### **Efecto de tratamiento**

Se refiere al efecto que ocurre si el tratamiento no es constante en el tiempo, también lo denominan interacción del periodo-tratamiento (Senn, 2002). Si este efecto resulta ser significativo, se podría ignorar, ya que se puede producir en forma artificial cuando existe una baja variabilidad o el número de voluntarios es alto. No tiene sentido comparar las dos formulaciones, ya que se deben evaluar por el procedimiento del *two one sided test* (TOST) o el intervalo de confianza al 90 % para la diferencia de medias transformadas a logaritmo. La hipótesis nula de igualdad de biodisponibilidad entre las formulaciones no implica ABE entre las formulaciones de acuerdo a los requerimientos de la FDA.

### **Efecto de secuencia**

Se refiere a las diferencias que se pueden encontrar según el orden de administración de las formulaciones que se comparan (TR) o (RT). Si este efecto fuese significativo, se podría suponer que hay un efecto de arrastre presente o bien un efecto de la interacción entre tratamiento y periodo. Estos dos efectos se confunden y es difícil reconocerlos con certeza. Por consiguiente, bajo ciertas circunstancias el efecto de secuencia significativo se puede ignorar en el caso de que:

- el estudio se realice bajo el régimen de dosis única
- el estudio se ejecute en voluntarios sanos
- no se realice la comparación en sustancias endógenas
- el estudio cuente con un periodo de depuración adecuado
- se utilice un diseño y análisis apropiado.

(FDA, 2003).

### **Efecto del periodo**

Es el efecto que se puede encontrar entre los resultados obtenidos en el primer periodo y el segundo periodo de estudio dentro del diseño.

Si está presente, puede indicar algún problema en el desarrollo del estudio: problemas de manejo, análisis y almacenamiento de la muestra, diferencias climáticas, dietéticas, actividad física u otras (Zapater y Horga, 1999). Este efecto también puede darse cuando no todos los voluntarios se presentan al momento del inicio del estudio, y algunos de ellos comienzan más tarde.

Al final, algunos de ellos habrán finalizado el estudio en diferentes tiempos (Senn, 2002). Si hay diferencias significativas, esto puede deberse al hecho de que en uno de los dos periodos, los niveles plasmáticos ( $C_{max}$  y  $ABC$ ) son mayores o menores que en el otro.

De todos los efectos que se deben evaluar al inicio del estudio de BE, el más importante está dado por el efecto de arrastre. Si se detecta en el estudio:

- puede invalidar el análisis para detectar el efecto de tratamiento y de periodo, pues condiciona su cálculo
- puede inhabilitar la conclusión de un estudio de BE.

Estos efectos están en detalle con sus respectivas fórmulas en el apéndice C.

### 2.6.3. Diseño cruzado replicado

Los diseños cruzados replicados son aquellos diseños que pueden presentar más de dos periodos o más de dos secuencias. Son utilizados con el fin de disminuir la cantidad de voluntarios en un estudio de bioequivalencia (Karalis *et al.*, 2011).

Existen los diseños cruzados replicados completos e incompletos. Los diseños cruzados replicados completos corresponden a aquellos donde la cantidad de periodos es igual a la cantidad de secuencias, ya sea un diseño cruzado replicado  $3 \times 3$  o  $4 \times 4$ , y los diseños cruzados replicados incompletos son aquellos donde la cantidad de periodos no es igual a la cantidad de secuencias, ya sea un diseño  $2 \times 3$  o  $2 \times 4$ . La forma de administración de las formulaciones varía en todos los casos, en los diseños con 3 periodos, puede emplearse dos veces la formulación de referencia o la de prueba. Un ejemplo en particular se detalla a continuación para un diseño cruzado replicado  $3 \times 3$  (3 periodos y 3 secuencias):

- En la secuencia 1, se administra el fármaco de prueba en el periodo 1, el fármaco de referencia en el periodo 2 y el fármaco de referencia en el periodo 3 (TRR)
- En la secuencia 2, se administra el fármaco de referencia en el periodo 1, el fármaco de prueba en el periodo 2 y el fármaco de referencia en el periodo 3 (RTR)
- En la secuencia 3, se administra el fármaco de referencia en el periodo 1, el fármaco de referencia en el periodo 2 y el fármaco de prueba en el periodo 3 (RRT)

donde se observa que la formulación de referencia es la que se aplica dos veces (Karalis *et al.*, 2011).

Estos diseños cruzados replicados son utilizados para declarar bioequivalencia en los fármacos altamente variables, ya que reducen el número de voluntarios. En términos generales, para este tipo de diseños, puede usarse la misma potencia estadística que en un diseño cruzado de  $2 \times 2$ , pero la ventaja es que sólo es necesaria la mitad de voluntarios que se utilizarían en un diseño cruzado de  $2 \times 2$ . Sin embargo, estos estudios aumentan la duración de la exposición de los voluntarios y podrían conducir a una mayor ocurrencia de abandonos de voluntarios (Karalis *et al.*, 2011).

## 2.7. Análisis estadístico

La principal preocupación de las autoridades sanitarias es el riesgo que supondría para los pacientes la aceptación errónea de que un producto sea bioequivalente cuando en realidad no lo es. Por este motivo solamente se deben utilizar procedimientos estadísticos en los que este riesgo no exceda del 5% aceptable (Laosa *et al.*, 2009).

Todo estudio de bioequivalencia, pasa por varias etapas:

1. Clínica: Internación de los voluntarios, extracción de muestras, controles.
2. Bioanalítica: Análisis de las muestras.
3. Estadística: Evaluación estadística de los resultados.

Usualmente, la primera fase del análisis estadístico de los datos farmacocinéticos de un estudio de BE consiste en un análisis de varianza (ANOVA), donde se evalúan todos los factores que intervienen en el estudio, vale decir, tratamientos (productos investigados), periodos, secuencias, sujetos en la secuencia, y varianza residual (que incluye toda fuente de variación no conocida) (ANAMED, 2005).

El análisis estadístico debe seguir una metodología, que en líneas generales es la siguiente.

### 2.7.1. Estadística descriptiva

En donde se obtienen las estadísticas de resumen principales de las métricas asociadas al estudio de BE, es decir,  $C_{max}$ ,  $ABC_{0 \rightarrow t}$ ,  $ABC_{0 \rightarrow \infty}$  (ANMAT, 2013).

### 2.7.2. Análisis de varianza (ANOVA)

En esta parte se toman en cuenta las características del diseño, las fuentes de variación, voluntarios, secuencias, periodos y tratamientos, ya que el diseño más frecuentemente utilizado es el de dos secuencias, dos periodos, cruzado y balanceado (cada secuencia debe estar compuesta por el mismo número de voluntarios) (ANMAT, 2013).

Previo al ANOVA, se requiere cumplir una serie de supuestos o requisitos, inherentes al análisis de varianza, los que, aplicándolos a los estudios de bioequivalencia, se describen como sigue:

#### Supuestos estadísticos

Los supuestos en que se basa el análisis de ANOVA según FDA (2003) son:

- Aleatorización de las muestras: significa que los voluntarios elegidos para el estudio deben ser asignados al azar a las secuencias del estudio.
- Homogeneidad de varianzas: significa que las varianzas asociadas con los dos tratamientos, como entre los grupos secuencia, deben ser iguales o al menos comparables.
- Aditividad (linealidad) del modelo estadístico: significa que los efectos principales del modelo estadístico, tales como sujetos, secuencia, periodo y tratamiento, para un diseño cruzado estándar, deben ser aditivos. No debe haber interacciones entre esos efectos. Al transformar a logaritmo las métricas farmacocinéticas se asume aditividad en el modelo.
- Independencia y normalidad de los residuos: significa que los datos del estudio de bioequivalencia deben tener una distribución normal.

Los datos dependientes de la concentración, tales como  $ABC$  y  $C_{max}$ , deben ser logarítmicamente transformados antes del análisis estadístico, para satisfacer los supuestos del análisis de varianza (ANAMED, 2005).

### 2.7.3. Análisis de bioequivalencia

La cuál implica la aplicación de las pruebas regulatorias que exige la normativa de ABE de cada país. En Chile, se construye un IC al 90% el cuál ha sido transformado logarítmicamente para así pasar de una razón de medias, a una diferencia de medias. La prueba de Shuirmann o TOST es equivalente a la construcción del IC (ANMAT, 2013).

## 2.8. Transformación logarítmica de los datos

En general se deben realizar transformaciones de los datos en forma previa al ANOVA, para mejorar el cumplimiento de los supuestos de esta prueba, ya que muchos datos biológicos corresponden más a una distribución logarítmica normal que a una distribución normal (ANAMED, 2005).

En farmacocinética la transformación logarítmica es preferida por varios aspectos, los cuales se presentan a continuación.

### 2.8.1. Criterio clínico

En la reunión de septiembre de 1991, el Comité de Asesoramiento para Fármacos Genéricos (Generic Drugs Advisory Committee, GDAC) llegó a la conclusión de que la comparación de mayor importancia en un estudio de bioequivalencia era la razón de los promedios de las métricas de las formulaciones de prueba y de referencia en lugar de la diferencia entre dichas métricas (FDA, 2003).

Utilizando la transformación logarítmica, el modelo general de estadística lineal empleado en el análisis de los datos de bioequivalencia permite obtener inferencias acerca de la diferencia entre los dos promedios en la escala logarítmica, que a su vez pueden transformarse en inferencias acerca de la razón de los dos promedios (medias o medianas) en la escala original. La transformación logarítmica logra así, la comparación general en base a la razón en lugar de la diferencia (FDA, 2003).

Así,

$$\text{Ln}(T) - \text{Ln}(R) = \text{Ln}(T/R) \quad ,$$

donde

- T = Métrica farmacocinética del fármaco de prueba.
- R = Métrica farmacocinética del fármaco de referencia.

(Pérez, 1990).

### 2.8.2. Criterio farmacocinético

Un modelo multiplicativo para las métricas farmacocinéticas puede postularse en los estudios de biodisponibilidad y bioequivalencia; por ejemplo,



para  $ABC$  y  $C_{max}$ , pero no para  $t_{max}$ . Suponiendo que la eliminación del fármaco es de primer orden y sólo ocurre desde el compartimiento central, la siguiente ecuación es válida cuando el fármaco se administra vía extravascular:

$$ABC = (D \times F)/Cl,$$

con

$$Cl = V \times K_e$$

$$ABC = (D \times F)/(V \times K_e)$$

$$v/s$$

$$\ln ABC = \ln D + \ln F - \ln Cl \quad ,$$

donde

- $F$  es la fracción absorbida
- $D$  es la dosis administrada
- $D \times F$  es la cantidad del fármaco absorbida
- $Cl$  o clearance es la depuración del fármaco en un individuo dado que es producto del volumen de distribución aparente ( $V$ ) y de la constante de la velocidad de eliminación ( $K_e$ ).

(FDA, 2003).

El uso de la  $ABC$  como medida de la cantidad del fármaco absorbido por lo tanto involucra un término multiplicativo ( $Cl$ ) que podría considerarse una función del individuo. Por este motivo, se sostiene que el efecto del individuo no es aditivo si los datos se analizan en la escala de medición original (FDA, 2003).

La transformación logarítmica de los datos de  $ABC$  llevará el término de  $Cl$  ( $V K_e$ ) en la ecuación en forma aditiva (FDA, 2003).

$$\ln ABC = \ln D + \ln F - \ln V - \ln K_e \quad .$$

### 2.8.3. Criterio estadístico

Muchos datos biológicos siguen una distribución logarítmica normal más que una distribución normal. Los datos de concentración plasmática, incluyendo las métricas  $ABC$  y  $C_{max}$ , tienden a estar sesgados, y sus varianzas tienden a aumentar con los promedios. Es probable que la transformación logarítmica corrija esta situación y haga que las varianzas sean independientes del promedio. Además, las distribuciones de frecuencia sesgadas a la izquierda (con una cola larga hacia la derecha) con frecuencia se vuelven más simétricas con la transformación logarítmica (FDA, 2003).

A pesar de los argumentos referentes al efecto de la transformación logarítmica en la normalidad de los datos de bioequivalencia, la división de bioequivalencia reconoce que el tamaño limitado de la muestra en un estudio de bioequivalencia impide la determinación confiable de la distribución normal esperada del conjunto de datos, ya sea con o sin transformación logarítmica (FDA, 2003).

## 2.9. Intervalo de confianza (IC)

El método del intervalo de confianza es un método apropiado para evaluar la bioequivalencia promedio. En las bases del IC, se sugiere la siguiente acción para la toma de decisiones:

“Si un IC al 100  $(1 - 2\alpha)$  % para la diferencia  $(\mu_T - \mu_R)$  o la razón  $(\mu_T/\mu_R)$  está dentro de los límites de aceptación según lo recomendado por las agencias regulatorias, entonces se concluye que la formulación de prueba es bioequivalente con la formulación de referencia; en otro caso, se rechaza”.

Siendo el IC al 90 % el método utilizado para declarar ABE, se tiene que este se basa en las siguientes hipótesis:

$$H_{01} : \phi \leq \theta_1$$

$$H_{02} : \phi \geq \theta_2$$

y

$$H_{11} : \phi > \theta_1$$

$$H_{12} : \phi < \theta_2,$$

donde

- $\phi = \mu_T - \mu_R$  ; corresponde a la diferencia media entre la biodisponibilidad del fármaco de prueba y la del fármaco de referencia.
- $\theta_1$  y  $\theta_2$  son límites constantes de BE, preestablecidos. Habitualmente se asumen límites de equivalencia simétricos

$$-\theta_1 = \theta_2 = \theta = \pm 0,223$$

para los datos en la escala logarítmica que corresponden a los límites 80/125 en la escala original, dado que

$$-\log(0,8) = \log(1,25) = 0,223.$$

- $\alpha = 0,10$ .

Se declara ABE si el intervalo de confianza,

$$\bar{D} \pm t_{(\alpha, N-2)} \times s\hat{e}_{\bar{D}} \quad ,$$

está dentro de los límites de bioequivalencia  $[\theta_1, \theta_2]$ ,

donde

- $t_{(\alpha, N-2)}$  es el cuantil  $1 - \alpha$  de una distribución  $t$  de Student con  $N - 2$  grados de libertad;
- $\bar{D}$  es un estimador insesgado de  $\phi$ , donde  $\phi = \mu_T - \mu_R =$  diferencia entre las métricas farmacocinéticas de ABE; y,
- $s\hat{e}_{\bar{D}}$  es un estimador de su error estándar.

(Sánchez *et al.*, 2011).

Específicamente, se declara ABE con  $\alpha = 0,10$  si el intervalo de confianza del 90 % para la diferencia de medias con datos transformados logarítmicamente está dentro de los límites  $\theta = \pm 0,223$ .

## 2.10. *Two one-sided test (TOST)*

El TOST es operacionalmente equivalente al clásico IC, esto es, si el clásico IC al 100  $(1 - 2\alpha)$  % para  $\mu_T - \mu_R$  está dentro de  $(\theta_1, \theta_2)$ , entonces ambas hipótesis son también rechazadas al nivel de significación  $\alpha$  (Chow y Liu, 2009).

Schuirmann (1987) sugirió descomponer la hipótesis de bioequivalencia en dos hipótesis unilaterales:

$$H_{01} : \phi \leq \theta_1$$

$$H_{02} : \phi \geq \theta_2$$

y

$$H_{11} : \phi > \theta_1$$

$$H_{12} : \phi < \theta_2,$$

donde

- $\phi = \mu_T - \mu_R$  ; corresponde a la diferencia media entre la biodisponibilidad del fármaco de prueba y la del fármaco de referencia; y
- $\theta_1$  y  $\theta_2$  son límites constantes de BE, preestablecidos.

Se concluye la condición de ABE, si y sólo si, ambas hipótesis  $H_{01}$  and  $H_{02}$  se rechazan a un nivel nominal de significación  $\alpha$  (por ejemplo, 0.05). Este procedimiento se conoce con el nombre de *two one-sided test* (TOST). Bajo esta nueva forma de plantear la hipótesis nula, si se rechazan ambas hipótesis nulas,  $H_{01}$  y  $H_{02}$  se puede decir que ambos fármacos son bioequivalentes, y, en cambio, si no se rechaza alguna de las dos hipótesis nulas, los fármacos no se consideran bioequivalentes.

La lógica que subyace al procedimiento del TOST es que si se puede concluir que  $\theta_1 < \mu_T - \mu_R$ , y también concluir  $\mu_T - \mu_R < \theta_2$ , entonces se llega a la conclusión, que  $\theta_1 < \mu_T - \mu_R < \theta_2$  (Schuirmann, 1987).

Bajo el supuesto de normalidad que se ha hecho, los dos conjuntos de hipótesis unilaterales se pondrán a prueba con la prueba  $t$  unilateral. Por lo tanto, se concluye que  $\mu_T$  y  $\mu_R$  son equivalentes (para un estudio balanceado) si:

$$t_1 = \frac{(\bar{X}_T - \bar{X}_R) - \theta_1}{s\sqrt{2/n}} \geq t_{1-\alpha(v)}$$

y

$$t_2 = \frac{\theta_2 - (\bar{X}_T - \bar{X}_R)}{s\sqrt{2/n}} \geq t_{1-\alpha(v)}$$

donde, una vez más,  $s$  es la raíz cuadrada del error cuadrático medio del análisis de varianza del diseño cruzado.  $t_{1-\alpha(v)}$  es el punto de probabilidad  $\alpha$  en la cola superior de la distribución  $t$  de Student, donde  $v$  es el número de grados de libertad asociados al error cuadrático medio (Schuirmann, 1987).

## 2.11. Evolución de las reglas de prueba para bioequivalencia

Al pasar de los años, se han utilizado varios criterios para establecer la condición de ABE. En Chow y Liu, (2009), se resumen estos de acuerdo a las principales recomendaciones regulatorias:

1. **Regla 80/20:** Las medias de la formulación de referencia y de prueba no deberían ser significativamente diferentes, a un nivel de significación del 5 %, es decir  $\alpha = 0.05$ . Debería haber al menos un 80 % de potencia para detectar diferencias, es decir,  $1 - \beta = 0.80$ , considerando que la verdadera diferencia podría ser al menos un 20 % de la media observada de la formulación de referencia.
2. **Regla 75/75:** Al menos un 75 % de los sujetos deberían mostrar un valor de biodisponibilidad de al menos un 75 % de la correspondiente medida de la biodisponibilidad de la formulación de referencia.
3. **Regla  $\pm 20$ :** La biodisponibilidad media de la formulación de prueba  $\mu_T$ , debería estar dentro del  $\pm 20$  % de la media de la formulación de referencia,  $\mu_R$ , es decir, la razón de medias debería estar en el intervalo  $0.8 < \mu_T/\mu_R < 1.20$ .
4. **Regla 80/125:** En la actualidad es la más ampliamente utilizada y está recogida en las principales regulaciones de las agencias del medicamento. Se aplica a los datos transformados a la escala logarítmica. Permite declarar BE en términos de una diferencia (en la escala logarítmica) en lugar de una razón en la escala original. Si, en la escala original de la biodisponibilidad, se considera que una razón de medias geométricas entre el 0.8 y 1.25 es admisible, es decir,  $0.8 < media_T/media_R < 1.25 = 1/0.8$ , así las medias de las variables en escala logarítmica corresponden a las medias geométricas en la escala original, esta desigualdad se convierte en  $-0.22314 = \ln(0.8) < \mu_T - \mu_R < \ln(1.25) = 0.22314$ . Es decir, el criterio 80/125 en escala original se convierte en  $\pm 0.223$  para la diferencia de medias en la escala logarítmica. Ambos criterios son equivalentes (80/125 o  $\pm 0.223$ ), cada uno en su escala.

## 2.12. Fármacos/productos de alta variabilidad (Highly variable, HV)

Uno de los problemas de mayor complejidad que presentan los estudios de ABE corresponde a su evaluación dentro del grupo de fármacos o productos de alta variabilidad.

Los fármacos HV corresponden a todos aquellos fármacos o productos que presentan un coeficiente de variación intrasujeto igual o mayor al 30%. Este coeficiente de variación elevado puede ser debido a dos situaciones:

- A los fármacos de alta variabilidad, donde su principio activo está descrito en la literatura como de alta variabilidad.
- A los productos de alta variabilidad, donde su formulación ha sido de baja calidad (formulación pobre). El fármaco se comporta como si fuera de alta variabilidad, aún cuando su principio activo no esté catalogado como de alta variabilidad.

(Midha *et al.*, 2005).

Un estudio de los medicamentos genéricos de la FDA del año 2003 al 2005 mostró que aproximadamente el 20% de los medicamentos genéricos son HV debido a su principio activo (Davit *et al.*, 2008). La determinación de la BE en los medicamentos genéricos HV es un reto debido a la elevada variabilidad que poseen, lo cuál significa que un gran número de voluntarios sanos (tamaño muestral) deben incluirse en un estudio para demostrar BE (Davit *et al.*, 2012).

## 2.13. Fármacos con margen terapéutico estrecho (Narrow therapeutic index, NTI)

Los fármacos de margen terapéutico estrecho (Narrow therapeutic index, NTI) son aquellos que se encuentran en un margen estrecho de diferencia entre las concentraciones terapéuticas mínimas y tóxicas mínimas de un fármaco. Estos fármacos necesitan una valoración bastante más cuidadosa y exhaustiva, y así también una monitorización del paciente para un uso seguro y eficaz del producto (Dentali *et al.*, 2011).

Los fármacos NTI corresponden a aquellos en donde la diferencia entre la concentración mínima y la concentración máxima es pequeña. Una concentración bajo la concentración mínima para hacer el efecto terapéutico no

es eficaz y no realiza la acción terapéutica y una concentración por sobre la concentración máxima para hacer el efecto terapéutico es tóxica y produce reacciones adversas (Dentali *et al.*, 2011).

En la Figura 2.3 se observa que:

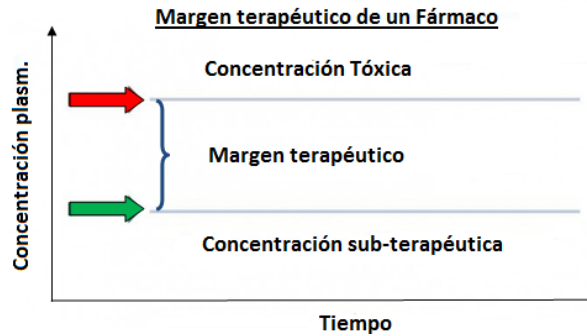


Figura 2.3: Margen terapéutico de un fármaco.

- Una concentración bajo la concentración mínima para hacer el efecto terapéutico no es eficaz y no realiza la acción terapéutica.
- Una concentración por sobre la concentración máxima para hacer el efecto terapéutico es tóxica y produce algún efecto colateral o reacción adversa.
- Se está en presencia de un fármaco NTI cuando la diferencia entre la concentración mínima y la concentración máxima es pequeña.

## 2.14. Características de un estudio de BE

### Errores en la toma de decisión

El objetivo de una prueba de hipótesis es decidir cuál de las dos hipótesis complementarias es más probable que sea cierta. Estas dos hipótesis se denominan hipótesis nula e hipótesis alternativa y se denotan como  $H_0$  y  $H_1$ , respectivamente (Hauschke *et al.*, 2007).

En el proceso de toma de decisión en un estudio de ABE se pueden presentar varios errores entre los cuales hay dos que están definidos por:

1. **Error del tipo I o riesgo del consumidor:** Corresponde a la probabilidad de declarar bioequivalencia cuando no la existe.

2. **Error del tipo II o riesgo del patrocinador:** Corresponde a la probabilidad de no declarar bioequivalencia cuando si la existe.

(Hauschke *et al.*, 2007).

En el cuadro 2.5 se presenta un esquema que ilustra los errores:

La decisión es:	La hipótesis nula de BE es:	
	Verdadera	Falsa
No rechazar hipótesis nula	Decisión correcta	Error tipo II
Rechazar hipótesis nula	Error tipo I	Decisión correcta

Cuadro 2.5: Errores tipo I y II en un test de hipótesis de BE.

En el Cuadro 2.5 se observa que la decisión correcta consiste en no rechazar la hipótesis nula cuando esta es verdadera, y por otro lado, rechazar la hipótesis nula cuando esta es falsa. Esta última denominada el riesgo del patrocinador es menos riesgosa que la primera, denominada el riesgo del consumidor.

### Potencia del estudio

La potencia de un estudio de bioequivalencia promedio está definida como la probabilidad de demostrar BE cuando, en realidad, si la existe. Consiste en rechazar ambas hipótesis nulas, cuando estas son falsas, y el valor de potencia usualmente escogido corresponde a 0.80. Matemáticamente, la potencia se iguala a 1 menos la probabilidad del error de tipo II (Patterson y Jones, 2006).

### Razón de media geométrica (RMG)

La razón de medias geométricas está definida por la relación (razón) de las métricas de BE entre el medicamento de prueba y el de referencia (prueba/referencia). Si la proporción de prueba/referencia se diferencia de la unidad (1), la potencia total para demostrar BE se reduce para cualquier tamaño de muestra dado, lo que resulta en un aumento en el número necesario de voluntarios de estudio (Davit *et al.*, 2012).



## 2.15. Comparación de la bioequivalencia promedio con la bioequivalencia promedio escalada

Existen diversos tipos de bioequivalencia, tales como:

- Bioequivalencia promedio
- Bioequivalencia individual
- Bioequivalencia poblacional
- Bioequivalencia promedio escalada.

En este trabajo de titulación se abordará sólo la bioequivalencia promedio y la bioequivalencia promedio escalada, las cuales se detallan a continuación.

### 2.15.1. Bioequivalencia promedio

El estudio de bioequivalencia que se ha mencionado hasta ahora recibe el nombre de bioequivalencia promedio, ya que como su nombre lo indica se basa en la comparación del valor promedio de las métricas farmacocinéticas considerando la varianza de los mismos (Formentini, 2013).

Sin embargo, este tipo de estudios solo establece diferencias entre las medias estudiadas y no permite conocer otros aspectos de variación como la intraindividual de cada una de las formulaciones o la variabilidad de la interacción sujeto-formulación (Formentini, 2013).

Ello ha llevado a la FDA a definir y sugerir nuevas estrategias que permitan delimitar estos aspectos y garantizar el objetivo final de los estudios de bioequivalencia (Formentini, 2013).

El siguiente criterio es recomendado para la ABE según FDA (2003):

$$(\mu_T - \mu_R)^2 \times \theta_A^2 \quad ,$$

donde

- $\mu_T$  = Media de la población de la transformación logarítmica para la formulación T (de prueba).
- $\mu_R$  = Media de la población de la transformación logarítmica para la formulación R (de referencia).

Este criterio es equivalente a:

$$-\theta_A \times (\mu_T - \mu_R) \times \theta_A \quad ,$$

donde, usualmente  $\theta_A = \ln(1,25)$ .

### 2.15.2. Bioequivalencia promedio escalada

La bioequivalencia promedio escalada corresponde a un tipo de bioequivalencia, la cuál se define por la comparación del valor promedio de las métricas farmacocinéticas, agregando un escalar y una varianza estándar regulatoria. Consiste en ampliar o reducir sus límites de bioequivalencia (Tothfalusi *et al.*, 2009).

La FDA propone que este tipo de bioequivalencia puede aplicarse a los fármacos de alta variabilidad. Para ello, se debe trabajar con diseños cruzados replicados, que posean 3 periodos, donde el fármaco de referencia se administre dos veces (TRR, RTR, RRT). Para demostrar bioequivalencia, el criterio normativo para la bioequivalencia promedio escalada debe satisfacerse, y la estimación puntual de la RMG debe estar entre 0.80 y 1.25 (Tothfalusi *et al.*, 2009).

Así, se tiene que:

$$-\theta_S \leq [(\mu_T - \mu_R)/\sigma_W] \leq \theta_S \quad ,$$

donde

- $\theta_S = \log(1,25)/\sigma_0$ .
- $\sigma_0 =$  Variación estándar regulatoria.
- $\sigma_W =$  Variabilidad intra-sujeto.

Estos valores varían según la regulación:

- EMA:  $\sigma_0 = 0,294$  ;  $\theta_S = 0,760$ .
- FDA:  $\sigma_0 = 0,25$  ;  $\theta_S = 0,893$ .

(Tothfalusi *et al.*, 2009).

La SABE incorpora en su determinación algunas constantes basadas en la variabilidad. Probablemente la incorporación de estas constantes dan cuenta

de una determinación de bioequivalencia que da cuenta de algunas variabilidades que reflejan la complejidad de la cinética de algunos fármacos (Tothfalusi *et al.*, 2009).

## 2.16. Criterios de las autoridades reguladoras: FDA y EMA

La FDA y la EMA corresponden a las agencias reguladoras que encabezan a nivel mundial el tema de la salud. Estas agencias trabajan bajo distintos criterios, pero normalmente llegan a resultados similares. Un caso en particular corresponde al escalamiento en SABE, ya que la FDA escala ambas métricas, y la EMA sólo escala  $C_{max}$ . A continuación se presentan ambos criterios:

### ■ La FDA

Científicos de la FDA recomendaron un enfoque escalado para la evaluación de BE, donde fue propuesto el diseño cruzado replicado. En este, se administra dos veces el producto de referencia y una vez el producto de prueba en cada individuo, logrando así 3 secuencias, las cuáles son: TRR, RTR, y RRT. Se asigna  $\sigma_{reg} = 0.25$ , demostrando así un buen balance entre el enfoque conservativo y el práctico. Matemáticamente, este criterio puede ser descrito como sigue:

$$\text{Límites de BE} = \exp\left(\pm \ln(1,25) \times \frac{\sigma_{WR}}{\sigma_{reg}}\right)$$

para  $\sigma_{WR} \geq 0,30$ , donde  $\sigma_{reg}$  se refiere a la variación estándar regulatoria igual a 0.25 (Karalis *et al.*, 2011).

En la figura 2.4 se observa la variación de los límites según los  $CV_{intrasujeto}$ .

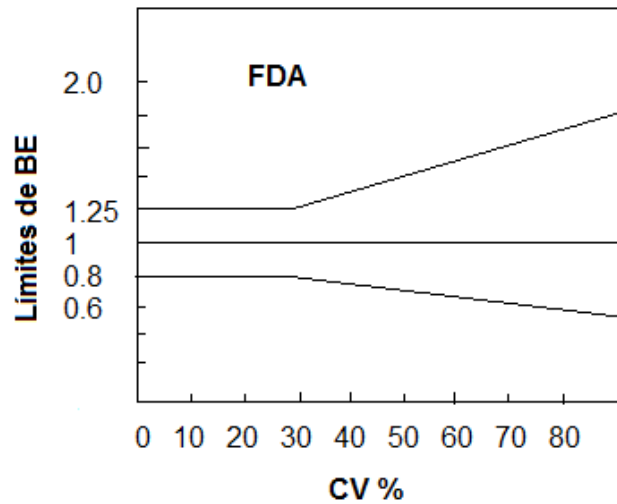


Figura 2.4: Límites de BE según FDA.

Adaptado de Artículo de Karalis *et al.*, 2012.

#### ■ La EMA

En el caso de los fármacos HV, la regulación de la EMA también recomienda el uso de diseños replicados. De acuerdo a este diseño, el producto de referencia debe ser administrado dos veces, lo cuál permite la estimación de  $\sigma_W^2$  para la formulación de referencia. Los límites de aceptación de las  $ABC$  permanecen sin cambios. Sin embargo, los valores estimados de variabilidad para  $C_{max}$  pueden ser usados para construir los límites de BE escalados para esta métrica, llegando a un intervalo de 69.84-143.19 %, con una constante regulatoria de  $k = 0.760$ . La RMG del estudio debe estar dentro del rango de aceptación de BE correspondiente 0.80 a 1.25 (Karalis *et al.*, 2011).

Este criterio está descrito como sigue:

$$\text{Límites de BE} = \exp(\pm k \times \sigma_{WR})$$

donde  $k = 0.760$  es el factor de escala dado por las autoridades regulatorias (Karalis *et al.*, 2012).

En la figura 2.5 se observa la variación de los límites según los  $CV_{intrasujeto}$ .

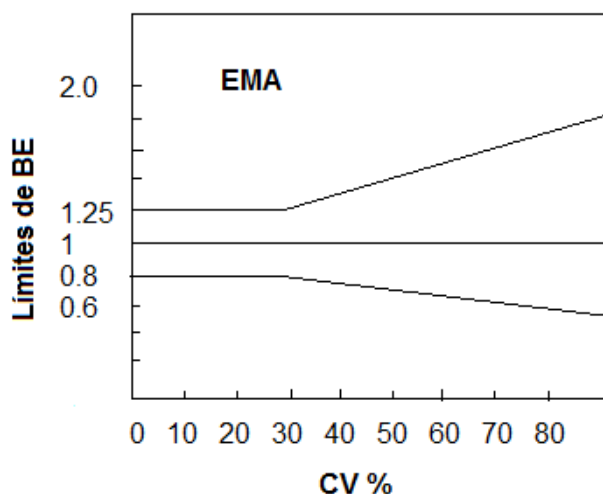


Figura 2.5: Límites de BE según EMA.

Adaptado de Artículo de Karalis *et al.*, 2012.

En el cuadro 2.6 se observa un esquema que resume los criterios de ambas agencias reguladoras.

	Enfoque de BE	
	FDA	EMA
Diseño clínico	Replicado completo o semi replicado	Replicado completo o semi replicado
Criterio de escala	$s_{WR}$	$s_{WR}$
Factor de escala	$k = \ln(1,25)/0,25 \approx 0,893$	$k = 0,760$
Cambio de criterio	$CV_{WR} \%$	$CV_{WR} \%$
Límites de BE:		
$CV_{WR} < 30 \%$	0.80 - 1.25	0.80 - 1.25
$30 \% \leq CV_{WR} < 50 \%$	$= \exp\left(\pm \ln(1,25) \times \frac{s_{WR}}{s_{W0}}\right)$	$\exp(\pm k \times s_{WR})$
$CV_{WR} \geq 50 \%$	$= \exp\left(\pm \ln(1,25) \times \frac{s_{WR}}{s_{W0}}\right)$	0.6984 - 1.4319

Cuadro 2.6: Criterios para declarar BE utilizados por ambas agencias reguladoras, la FDA y la EMA.

Adaptado de Karalis *et al.*, 2012.

En el cuadro 2.6 se muestra la comparación entre ambos criterios, FDA y EMA. La variación existente entre ambas agencias regulatorias corresponde

al factor de escala, donde el criterio de la EMA lo hace más conservativo con un  $k = 0,760$ , logrando así distintos valores en sus límites escalados.

## 2.17. Justificación

Debido a que resulta difícil comprobar BE en los medicamentos HV y NTI, existe una innovación dentro de los estudios de BE llamada bioequivalencia promedio escalada (Scaled average bioequivalence; SABE), que permite escalar los límites regulatorios de la BE, es decir, ampliar o reducir el intervalo regulatorio de  $[80 - 125 \%$ ] para poder establecer la condición de BE.

Para el caso de los fármacos HV se puede ampliar hasta  $69,84 - 143,19 \%$  (EMA, 2010), en cambio, para los fármacos NTI, se reduce en un  $90 - 111 \%$  (FDA, 2003), (EMA, 2010).

## 2.18. Hipótesis

En fármacos/productos de alta variabilidad y fármacos de margen terapéutico estrecho, resulta difícil determinar ABE, pues los resultados están sometidos a una variabilidad propia de su complejidad, lo que podría impedir lograr un resultado confiable con los métodos estadísticos tradicionales (regulatorios).

Debido a esto, se empleará un método alternativo para la determinación de ABE llamada bioequivalencia promedio escalada (SABE), comparándola con la bioequivalencia promedio (método regulatorio) para obtener mejores resultados. Así, la hipótesis a proponer en este trabajo de titulación corresponde a la siguiente:

“La expectativa de lograr mejores resultados con respecto a la determinación de BE en fármacos/productos de alta variabilidad y los fármacos de índice terapéutico estrecho, es mayor utilizando una bioequivalencia promedio escalada en vez de la bioequivalencia promedio (método regulatorio).”

# Capítulo 3

## Metodología

Para el estudio y análisis de este trabajo de titulación se consideraron los siguientes aspectos que se enumeran a continuación.

### 3.1. Diseño del estudio

Este estudio consiste en comparar los métodos regulatorios actuales con un método más moderno, en el análisis de los fármacos de alta variabilidad.

El estudio considera las siguientes etapas:

1. Análisis descriptivo de los datos de los 6 estudios entregados por el Instituto de Salud Pública (ISP), correspondientes al año 2013, los cuáles pertenecen al grupo de fármacos de alta variabilidad.
2. Aplicación de las pruebas regulatorias: Intervalo de confianza (IC) para la diferencia de medias transformadas previamente a logaritmo y la prueba *Two One Side Test* (TOST).
3. Aplicación y construcción de los IC escalados según criterio de FDA y EMA.
4. Determinación del tamaño muestral ( $n$ ) y potencia de cada estudio en ambos tipos de intervalos.
5. Simulaciones respecto de la potencia de los IC regulatorios y los escalados para el total de datos correspondientes.

## 3.2. Datos

El Instituto de Salud Pública (ISP) entregó toda la información disponible correspondientes a fármacos de alta variabilidad que totalizan el valor de seis. Todos ellos fueron ingresados al ANAMED para ser evaluados a través de estudios de BE y de los cuáles se le aplicó la normativa chilena. Estos datos serán un punto de partida para construir la base de datos que apoyará este estudio. Los datos provienen de diferentes expedientes presentados en el primer semestre de 2013 para la aprobación de ABE.

## 3.3. Variables evaluadas

Cada base de datos de los fármacos evaluados entregada por el ISP permitió generar información de las métricas farmacocinéticas:  $ABC_{0 \rightarrow t}$ ,  $ABC_{0 \rightarrow \infty}$  y  $C_{max}$ . La base de datos deberá contener información del diseño bajo el cuál se realizó el estudio, tales como: secuencia, periodo, tratamiento y voluntario, las cuales permitan evaluar los efectos asociados al diseño.

La base de datos creada con el fin de ser entregada al ISP para su eventual uso, deberá contener información del nombre del fármaco evaluado, su clasificación terapéutica, el laboratorio, la condición de fármaco o producto de alta variabilidad, el coeficiente de variación intrasujeto, el tamaño muestral del estudio, los IC calculados bajo las condiciones regulatorias y escalada, la potencia que tuvo el estudio y el tamaño muestral calculado para obtener una potencia de al menos un 80 %.

## 3.4. Simulaciones

La evaluación de cada intervalo de confianza regulatorio y escalado se realizará a través de la potencia (% aprobación de BE). La evaluación se realizará bajo métodos de *bootstrap* con 10000 réplicas.

En el caso del IC para el método escalado, las simulaciones se realizarán siguiendo los criterios de la FDA y de la EMA, debido a que los valores prefijados, tanto como el escalar y como la variación estándar regulatoria varían para ambas regulaciones.

Los softwares empleados para las simulaciones son R-project 3.0.2 y Stata 12.0.



# Capítulo 4

## Análisis y resultados

A continuación se muestran los resultados obtenidos a partir de los objetivos específicos del estudio.

### 4.1. Tipos de fármacos evaluados

Es muy importante conocer que grupos terapéuticos están involucrados en los llamados fármacos de alta variabilidad. De las 6 bases de datos del ISP, se muestran los siguientes resultados en el Cuadro 4.1.

Fármaco	Laboratorio	Grupo
Atorvastatina 20 mg	Opko	Hipocolesterolémico
Losartán 50 mg	Mintlab	Antihipertensivo
Losartán 100 mg	Lab. Chile	Antihipertensivo
Novsar (Losartán) 50 mg	Medinova	Antihipertensivo
Lipotropic (Atorvastatina) 20 mg	Drugtech-Recalcine	Hipocolesterolémico
Losapress 100 mg (Losartán potásico)	Pharma Investi	Antihipertensivo

Cuadro 4.1: Clasificación terapéutica de los fármacos analizados.

Los fármacos en estudio corresponden a fármacos antihipertensivos e hipocolesterolémicos, los cuales son de gran importancia a nivel nacional. La

hipertensión y la hipercolesterolemia representan un problema de gran prevalencia en Chile. La última Encuesta Nacional de Salud (ENS), año 2009 - 2010, arrojó los siguientes resultados:

- Hipertensión: 26.9 %
- Hipercolesterolemia : 38.5 %,

donde se observan valores altos a nivel nacional en este tipo de patologías. Estos fármacos son ampliamente utilizados en el tratamiento de la hipertensión arterial y de dislipidemias.

## 4.2. Estadísticas descriptivas de las métricas farmacocinéticas

Los valores promedios de los medicamentos de prueba y referencia, en relación a sus métricas farmacocinéticas son fundamentales para el análisis de la bioequivalencia promedio. En el Cuadro 4.2 se muestra el resumen de ellas.

Fármaco	$\bar{X}$ Métrica farmacocinética					
	$\bar{X} C_{max}$		$\bar{X} ABC_{0 \rightarrow t}$		$\bar{X} ABC_{0 \rightarrow \infty}$	
	R	P	R	P	R	P
Atorvastatina 20 mg Opko	14.1 mg	14.1 mg	72.4 mg	70.1 mg	62.3 mg	59.1 mg
Losartán 50 mg Mintlab	487.7 mg	481.3 mg	789.3 mg	799.4 mg	781.0 mg	794.1 mg
Losartán 100 mg Lab. Chile	403.8 mg	427.0 mg	679.4 mg	730.7 mg	672.4 mg	724.5 mg
Novsar (losartán) 50 mg Medinova	402.7 mg	380.6 mg	621.3 mg	601.1 mg	587.9 mg	567.5 mg
Lipotropic (atorvastatina) 20 mg	15.1 mg	15.0 mg	75.9 mg	79.1 mg	65.2 mg	68.0 mg
Losapress 100 mg (losartán potásico)	833.3 mg	746.1 mg	1151.4 mg	1215.6 mg	1039.6 mg	1061.9 mg

Cuadro 4.2: Medidas descriptivas de las métricas farmacocinéticas de referencia v/s prueba.

Note que:

- R: Fármaco de referencia.
- P: Fármaco de prueba.
- $\bar{X}$  = Media de las métricas farmacológicas.
- $C_{max}$  = Concentración plasmática máxima.
- $ABC_{0 \rightarrow t}$  = Área bajo la curva del tiempo 0 al tiempo  $t$ .
- $ABC_{0 \rightarrow \infty}$  = Área bajo la curva del tiempo 0 al tiempo  $\infty$ .

De los 6 fármacos analizados, todos muestran valores diferentes entre el fármaco de referencia y el de prueba, siendo algunas de estas diferencias significativas.

A simple vista, se observa que los fármacos que presentaron una mayor diferencia entre el fármaco de prueba v/s el de referencia corresponden a:

- Para  $C_{max}$ : Novsar (losartán) 50 mg medinova y Losapress 100 mg (losartán potásico).
- Para  $ABC_{0 \rightarrow t}$ : Losartán 100 mg Lab. Chile y Losapress 100 mg (losartán potásico).
- Para  $ABC_{0 \rightarrow \infty}$ : Todos los fármacos presentaron una gran diferencia, esto se podrá deber a la estimación del  $ABC$  que considera el tiempo infinito.

### 4.3. Descripción del tamaño muestral (n) y del diseño experimental

Es de gran importancia tener una idea de los diseños más empleados en estudios de BE, especialmente en términos de si son o no replicados y de los tamaños muestrales más utilizados en la realidad. Cabe destacar, que los fármacos de alta variabilidad son aquellos en que su  $CV_{intrasujeto}$  está descrito como de alta variabilidad en la literatura, en cambio los productos de alta variabilidad corresponden a aquellos que se obtuvieron de una formulación pobre. A continuación se resume esta información en el cuadro 4.3.

Fármaco	n	Crossover	Fármaco HV	Producto HV
Atorvastatina 20 mg Opko	66	2 × 2	Si	No
Losartán 50 mg Mintlab	36	2 × 2	Si	No
Losartán 100 mg Lab. Chile	36	2 × 2	Si	No
Novsar (losartán) 50 mg Medinova	72	2 × 2	Si	No
Lipotropic (atorvastatina) 20 mg	42	3 × 3	Si	No
Losapress 100 mg (losartán potásico)	36	3 × 3	Si	No

Cuadro 4.3: Resumen de los tamaños muestrales, tipos de diseños utilizados y condición del fármaco en los estudios presentados en el ISP.

Este cuadro contiene el tamaño muestral (n) real con el que se efectuó el estudio. De los 6 fármacos analizados, sólo un tercio de ellos se realizó con diseños replicados, y el resto se realizó con el diseño cruzado más frecuente y clásico de 2 × 2 (2 periodos y 2 secuencias).

Todos los fármacos corresponden a fármacos y no a productos de alta variabilidad, por lo tanto su principio activo está descrito como HV en la literatura.

El valor del tamaño muestral mínimo utilizado en el estudio fue de 36 voluntarios, y el máximo fue de 72 voluntarios. Estos estudios con más de 36 voluntarios son un indicador indirecto del costo alto asociado a los estudios, es decir a mayor tamaño muestral, el costo aumenta bastante. El tamaño

muestral promedio de estos 6 estudios da un valor de 48 voluntarios por estudio.

#### 4.4. Medición de los efectos asociados al diseño cruzado

Los diseños cruzados, como parte de su evaluación, requieren del cálculo de los efectos asociados al modelo, que en el caso de los expedientes de BE no se exigen ni se informan. Por ende, todo estudio de ABE o SABE, debería incluir la evaluación de los diferentes efectos asociados al tipo de diseño utilizado cuyo diseño experimental es un diseño cruzado, el cual incluye principalmente, los efectos: secuencia, tratamiento, periodo y carryover.

Los cuadros 4.4, 4.5, 4.6 y 4.7 corresponden a los efectos asociados a los fármacos que poseen un diseño cruzado  $2 \times 2$ . Los cuadros 4.8 y 4.9 corresponden a los efectos asociados a los fármacos que poseen un diseño replicado.

Estos efectos fueron calculados mediante el software Stata 12.0, el que permite calcular los diferentes efectos asociados al diseño crossover bajo 4 parametrizaciones, las que se detallan a continuación.

- Parametrización 1: Estima el efecto periodo, tratamiento y de arrastre. Asume que no hay efecto secuencia.
- Parametrización 2: Estima el efecto periodo, tratamiento, interacción periodo-tratamiento. Asume que no hay efecto secuencia ni de arrastre.
- Parametrización 3: Estima el efecto periodo, tratamiento y secuencia. Asume que no hay efecto de arrastre.
- Parametrización 4: Estima el efecto secuencia, tratamiento, interacción periodo-tratamiento. Asume que no hay efecto periodo ni de arrastre.

Para el cálculo de los efectos en diseño  $2 \times 2$ , se usó la parametrización 3, y sólo para el cálculo del efecto de arrastre se usó la parametrización 1, debido a que en un diseño  $2 \times 2$  no es posible calcularlo en forma directa. En cambio, para los efectos en diseño replicado, la parametrización 3, arroja todos los efectos.

A continuación se presentan los efectos asociados a cada fármaco en estudio, calculados con el software Stata.

Para el caso de los diseño cruzados  $2 \times 2$  los resultados fueron los siguientes:

Efectos	Métrica farmacocinética					
	$\ln C_{max}$		$\ln ABC_{0 \rightarrow t}$		$\ln ABC_{0 \rightarrow \infty}$	
	Existe	Valor p	Existe	Valor p	Existe	Valor p
<b>Secuencia</b>	No	0.6493	No	0.4003	No	0.4114
<b>Tratamiento</b>	No	0.7102	No	0.1543	No	0.5161
<b>Periodo</b>	No	0.7830	No	0.8111	No	0.3461
<b>Carryover</b>	No	0.6140	No	0.2566	No	0.2784

Cuadro 4.4: Efectos asociados al diseño cruzado  $2 \times 2$  para Atorvastatina 20 mg Opko.

Para la Atorvastatina (20 mg) no se aprecia ningún efecto significativo según criterio de valor p, en ninguna de las métricas farmacocinéticas utilizadas.

Efectos	Métrica farmacocinética					
	$\ln C_{max}$		$\ln ABC_{0 \rightarrow t}$		$\ln ABC_{0 \rightarrow \infty}$	
	Existe	Valor p	Existe	Valor p	Existe	Valor p
<b>Secuencia</b>	No	0.3583	No	0.5539	No	0.5664
<b>Tratamiento</b>	No	0.4944	No	0.9622	No	0.8478
<b>Periodo</b>	No	0.7649	No	0.3958	No	0.4074
<b>Carryover</b>	No	0.2267	No	0.4168	No	0.4308

Cuadro 4.5: Efectos asociados al diseño cruzado  $2 \times 2$  para Losartán 50 mg Mintlab.

Para Losartán (50 mg) tampoco se aprecia algún efecto significativo según criterio de valor p, en ninguna de las métricas farmacocinéticas utilizadas.

Efectos	Métrica farmacocinética					
	$\ln C_{max}$		$\ln ABC_{0 \rightarrow t}$		$\ln ABC_{0 \rightarrow \infty}$	
	Existe	Valor p	Existe	Valor p	Existe	Valor p
<b>Secuencia</b>	No	0.3613	No	0.4206	No	0.4217
<b>Tratamiento</b>	No	0.7818	No	0.6101	No	0.6256
<b>Periodo</b>	No	0.9148	No	0.2654	No	0.3118
<b>Carryover</b>	No	0.2422	No	0.2848	No	0.2856

Cuadro 4.6: Efectos asociados al diseño cruzado  $2 \times 2$  para Losartán 100 mg lab Chile.

Para Losartán (100 mg), no se aprecia ningún efecto significativo según criterio de valor p, en ninguna de las métricas farmacocinéticas utilizadas.

Efectos	Métrica farmacocinética					
	$\ln C_{max}$		$\ln ABC_{0 \rightarrow t}$		$\ln ABC_{0 \rightarrow \infty}$	
	Existe	Valor p	Existe	Valor p	Existe	Valor p
<b>Secuencia</b>	No	0.4447	No	0.4260	No	0.4105
<b>Tratamiento</b>	No	0.5331	No	0.2598	No	0.2640
<b>Periodo</b>	No	0.6315	No	0.6317	No	0.7314
<b>Carryover</b>	No	0.3606	No	0.2854	No	0.2713

Cuadro 4.7: Efectos asociados al diseño cruzado  $2 \times 2$  para Novsar (losartán) 50 mg Medinova.

Para Novsar (50 mg), tampoco se aprecia efecto alguno según criterio de valor p, para ninguna de sus métricas farmacocinéticas.

En general, en cuatro de los fármacos que se analizaron a partir de un diseño cruzado  $2 \times 2$  no se detectó ningún efecto significativo según criterio de valor p. El efecto cruzado en un diseño de  $2 \times 2$  no se puede determinar en forma directa. La evaluación de los efectos asociados al diseño constituye una herramienta de control de calidad en el proceso de recolección de datos.

En el caso de los diseños replicados  $3 \times 3$ , los resultados fueron los siguientes:

Efectos	Métrica farmacocinética					
	$\ln C_{max}$		$\ln ABC_{0 \rightarrow t}$		$\ln ABC_{0 \rightarrow \infty}$	
	Existe	Valor p	Existe	Valor p	Existe	Valor p
<b>Secuencia</b>	No	0.4818	No	0.8840	No	0.9043
<b>Tratamiento</b>	No	0.1619	No	0.4878	No	0.6975
<b>Periodo</b>	No	0.0663	No	0.1091	No	0.0837
<b>Carryover</b>	No	0.7979	No	0.4523	No	0.3476

Cuadro 4.8: Efectos asociados al diseño cruzado  $3 \times 3$  para Lipotropic (atorvastatina) 20 mg.

Para Lipotropic (20 mg), tampoco se aprecian efectos significativos según criterio de valor p asociados al diseño cruzado, para ninguna de las tres métricas farmacocinéticas evaluadas ( $C_{max}$ ,  $ABC_{0 \rightarrow t}$ ,  $ABC_{0 \rightarrow \infty}$ ).

Efectos	Métrica farmacocinética					
	$\ln C_{max}$		$\ln ABC_{0 \rightarrow t}$		$\ln ABC_{0 \rightarrow \infty}$	
	Existe	Valor p	Existe	Valor p	Existe	Valor p
<b>Secuencia</b>	No	0.5148	No	0.4608	No	0.5749
<b>Tratamiento</b>	No	0.2942	No	0.7718	No	0.4753
<b>Periodo</b>	No	0.0547	Si	0.0089	Si	0.0406
<b>Carryover</b>	No	0.4468	No	0.5447	No	0.3672

Cuadro 4.9: Efectos asociados al diseño cruzado  $3 \times 3$  para Losapress 100 mg (losartán potásico).

Finalmente, el único fármaco que arrojó un efecto significativo según criterio de valor p asociado al modelo, fue Losapress 100 mg, en el cuál el efecto periodo fue estadísticamente significativo para las áreas bajo la curva (de tiempo 0 a tiempo  $t$ , y de tiempo 0 a tiempo infinito). Este fármaco utilizó el diseño replicado  $3 \times 3$  para la recolección de datos.

El hecho de tener un efecto periodo significativo puede indicar algún problema en el desarrollo del estudio, ya sea, problemas de manejo, análisis y almacenamiento de la muestra, diferencias climáticas, dietéticas, actividad física u otras (Zapater y Horga, 1999).

En los diseños cruzados replicados la evaluación del efecto de arrastre se puede determinar directamente, es por esto que en este tipo de diseños se puedan obtener valores más cercanos al 0.05 correspondientes al valor p, en comparación con los valores que se obtienen en el diseño cruzado  $2 \times 2$ .

Los valores del efecto significativo son los siguientes:

- Existe efecto periodo en la variable  $\ln ABC_{0 \rightarrow t}$  para el fármaco Losapress 100 mg (losartán potásico) con un valor p = 0.0089
- Existe efecto periodo en la variable  $\ln ABC_{0 \rightarrow \infty}$  para el fármaco Losapress 100 mg (losartán potásico) con un valor p = 0.0406.



## 4.5. Cálculo de los $CV_{intrasujeto}$ para cada fármaco

El coeficiente de variación es una medida de gran importancia dentro de los estudios de BE. Esta importancia radica en que permite a través de su cálculo saber si se está en presencia de un fármaco de alta variabilidad o no.

Este  $CV_{intrasujeto}$  se debe calcular para cada métrica farmacocinética. Si el coeficiente de variación intrasujeto presenta valores mayores al 30% se está en presencia de un fármaco de alta variabilidad y que necesariamente requerirá un tipo especial de análisis.

En el Cuadro 4.10 se resumen los  $CV_{intrasujeto}$  de los 6 fármacos evaluados. Se incluye además el tamaño muestral real del estudio.

Fármaco	n	Crossover	$CV_{Intrasujeto}$		
			$\ln ABC_{0 \rightarrow t}$	$\ln ABC_{0 \rightarrow \infty}$	$\ln C_{max}$
Atorvastatina 20 mg Opko	66	$2 \times 2$	17.4 %	17.4 %	14.2 %
Losartan 50 mg Mintlab	36	$2 \times 2$	14.2 %	14.2 %	39.0 %
Losartan 100 mg Lab. Chile	36	$2 \times 2$	22.6 %	22.6 %	41.6 %
Novsar (losartán) 50 mg Medinova	72	$2 \times 2$	17.4 %	17.4 %	43.0 %
Lipotropic (atorvastatina) 20 mg	42	$3 \times 3$	24.8 %	28.8 %	60.2 %
Losapress 100 mg (losartán potásico)	36	$3 \times 3$	22.6 %	20.2 %	47.0 %

Cuadro 4.10: Resumen de los  $CV_{intrasujeto}$  de los estudios presentados en el ISP.

Los  $CV_{intrasujeto}$  calculados para las dos áreas bajo la curva fueron todos menores del 30%, sin embargo para  $C_{max}$  fueron todas superiores al 30% (exceptuando la Atorvastatina 20 mg Opko), con valores que fluctuaron en el 39.0% al 60.2%. Ello está respaldado en la literatura donde se describe que  $C_{max}$  es la métrica farmacocinética que presenta la mayor variabilidad en los estudios de BE.

De acuerdo al valor del  $CV_{intrasujeto}$  (proveniente del ANOVA), se aprecia que  $C_{max}$  es la métrica con mayor variación (el rango va de 39.0% a 60.2%).

Cabe destacar que los valores más altos corresponden a Lipotropic (20 mg) y Losapress (100 mg), los cuales provienen de un diseño replicado.

## 4.6. Construcción del IC para la bioequivalencia promedio

Para efectos de saber si los fármacos comparados son bioequivalentes, se aplicó el IC. Este intervalo se construye para una diferencia de medias para los datos transformados previamente a la escala logarítmica. Este criterio está presente en la normativa chilena y corresponde a una bioequivalencia promedio. Los intervalos deben caer dentro del intervalo regulario [80 - 125 %], según se planteó en la sección 2.9.

Fármaco	Intervalo de confianza para ABE			Cumple ABE
	$\ln ABC_{0 \rightarrow t}$	$\ln ABC_{0 \rightarrow \infty}$	$\ln C_{max}$	
Atorvastatina 20 mg Opko	98.1-100.8 %	97.4-100.1 %	93.5-104.1 %	Si
Losartán 50 mg Mintlab	99.0-100.7 %	99.1-100.8 %	96.9-101.2 %	Si
Losartán 100 mg Lab. Chile	98.9-101.8 %	98.9-101.8 %	97.7-103.1 %	Si
Novsar (losartán) 50 mg Medinova	98.8-100.2 %	98.7-100.2 %	97.2-101.2 %	Si
Lipotropic (atorvastatina) 20 mg	99.0-100.9 %	98.2-100.6 %	89.2-98.2 %	Si
Losapress 100 mg (losartán potásico)	100.0-101.5 %	99.5-101.2 %	96.8-100.9 %	Si

Cuadro 4.11: Valores de los IC para ABE.

En el Cuadro 4.11 se muestran los valores de los IC de los fármacos estudiados aplicando el método clásico de determinación de BE, denominado ABE (Average Bioequivalence). Se observa que todos los IC caen dentro del IC regulatorio correspondiente a 80-125 %, por lo tanto todos los fármacos cumplen con la condición de BE. Además, se aprecia que la amplitud de los intervalos es pequeña. Esta característica es muy poco común en los fármacos de alta variabilidad, y se esperaba que las amplitudes fueran mayores.

La métrica farmacocinética que presenta una mayor amplitud en sus intervalos corresponde a  $C_{max}$ . Esto corrobora lo esperado en forma teórica, dado que  $C_{max}$  es la métrica que presenta mayor variabilidad y que suele presentar altos  $CV_{intrasujeto}$ .

## 4.7. Cálculo de la potencia real del estudio

Unos de los aspectos limitantes de los estudios de BE están asociados al tamaño muestral y a la potencia que ha tenido el estudio. A continuación se resumen en el cuadro 4.12 los tamaños muestrales y las potencias reales que tuvo cada estudio.

Fármaco	n	Potencia		
		$\ln ABC_{0 \rightarrow t}$	$\ln ABC_{0 \rightarrow \infty}$	$\ln C_{max}$
Atorvastatina 20 mg Opko	66	99 %	99 %	99 %
Losartán 50 mg Mintlab	36	99 %	99 %	51 %
Losartán 100 mg Lab. Chile	36	93 %	93 %	44 %
Novsar (losartán) 50 mg Medinova	72	99 %	99 %	78 %
Lipotropic (atorvastatina) 20 mg	42	97 %	93 %	31 %
Losapress 100 mg (losartán potásico)	36	98 %	99 %	49 %

Cuadro 4.12: Valores de tamaños muestrales de los estudios, y la potencia asociada a cada estudio.

El n corresponde al valor del tamaño muestral real que tuvo el estudio. La potencia se calculó a través de la librería PowerTOST en R-project.

A partir de los valores de tamaños muestrales dados en cada estudio, se calculó la potencia de los expedientes de BE presentados en el ISP.

La potencia asociada a  $ABC_{0 \rightarrow t}$  y  $ABC_{0 \rightarrow \infty}$ , muestran valores altos, en cambio la potencia asociada a  $C_{max}$ , muestra valores bajos, algunos de ellos inferiores al 50 %.

Se observa que las potencias asociadas a la métrica  $ABC$  fueron todas superiores al 80 % (con valores en todas ellas superiores al 90 %). Sin embargo para  $C_{max}$  la situación es diametralmente opuesta, todos los valores de potencia (exceptuando el estudio de Atorvastatina 20 mg) fueron menores del 80 % lo cuál no es deseable en un estudio de BE.

Es importante destacar entonces que para efectos del cálculo del tamaño muestral (n) y potencia se debería considerar el  $CV_{intrasujeto}$  más alto que

habitualmente se refleja en  $C_{max}$ . Surge entonces una consecuencia la cuál radica en que el n del estudio debe estar calculado tomando en cuenta la métrica farmacocinética más variable, que en muchos casos está asociada a las concentraciones máximas.

## 4.8. Cálculo del tamaño muestral ideal del estudio

Todo estudio de bioequivalencia debería tener al menos una potencia deseable superior al 80 %. A veces esta potencia no se puede alcanzar debido a la naturaleza de las propiedades cinéticas del fármaco evaluado. A continuación se muestran los valores de los tamaños muestrales teóricos que debiese tener cada fármaco evaluado. Se incluye en una columna el n real del estudio para efectos de realizar la comparación.

Fármaco	n	Métrica farmacocinética					
		$\ln ABC_{0 \rightarrow t}$		$\ln ABC_{0 \rightarrow \infty}$		$\ln C_{max}$	
		n*	Potencia	n*	Potencia	n*	Potencia
Atorvastatina 20 mg Opko	66	16	84 %	16	84 %	12	86 %
Losartán 50 mg Mintlab	36	12	86 %	12	86 %	64	80 %
Losartán 100 mg Lab. Chile	36	24	81 %	24	81 %	72	81 %
Novsar (losartán) 50 mg Medinova	72	16	84 %	16	84 %	76	80 %
Lipotropic (atorvastatina) 20 mg	42	22	83 %	28	82 %	102	80 %
Losapress 100 mg (losartán potásico)	36	18	82 %	14	81 %	66	80 %

Cuadro 4.13: Tamaño muestral y potencia para valores teóricos.

El n\* corresponde al tamaño muestral teórico (ideal) que se obtuvo a partir de cálculos a *posteriori*, en cambio el n corresponde al tamaño muestral real del estudio.

Los tamaños muestrales y las potencias se obtuvieron mediante simulación para cada fármaco considerando su  $CV_{intrasujeto}$ . En los apéndices se adjuntan los códigos en R-project para su cálculo.

Se observó en el cuadro 4.12 que las potencias asociadas a  $C_{max}$  fueron muy bajas, por lo tanto los tamaños muestrales reales comparados con los teóricos muestran su mayor diferencia para esta métrica. Se puede destacar que Losartán 50 mg Mintlab debería haber utilizado 64 voluntarios y Losartán 100 mg 72 voluntarios para alcanzar la potencia deseada. En casi todos los casos se debió haber utilizado bastante más voluntarios para alcanzar una potencia adecuada, de al menos un 80 %.

Para Lipotropic 20 mg el  $n$  ideal en el caso de  $C_{max}$  debería haber sido de 102 voluntarios. Este valor es poco realista en términos del costo de un estudio de BE, por lo que el tamaño de la muestra se debe manejar bajo criterios de replicación del diseño, lo cuál permite gestionar un tamaño muestral más adecuado.

Por otro lado, el tamaño muestral para la Atorvastatina Opko (20 mg) fue de 66 voluntarios, siendo necesario sólo 16 voluntarios para alcanzar la potencia del 80 %.

Cabe destacar, que en un estudio de BE se debe utilizar el tamaño muestral calculado en base a la métrica que presenta el  $CV_{intrasujeto}$  más alto.

## 4.9. Cálculo de la bioequivalencia promedio escalada

De acuerdo a lo mencionado en el apéndice C.1, el cálculo de la bioequivalencia promedio escalada es a través del “Escalado con la variación intra-sujeto del producto de referencia”, donde especifica que la condición de BE se da cuando los límites superiores del intervalo de confianza son negativos. Teniendo esto en cuenta, se presentan a continuación los límites superiores bajo las condiciones de la FDA y de la EMA.

En el cuadro 4.14 se muestran los límites superiores para SABE según el criterio de la FDA.

Fármaco	Límite superior			Cumple SABE
	$\ln ABC_{0 \rightarrow t}$	$\ln ABC_{0 \rightarrow \infty}$	$\ln C_{max}$	
Atorvastatina 20 mg Opko	-0.023104	-0.020721	-0.133719	Si
Losartán 50 mg Mintlab	-0.012187	-0.012772	-0.068396	Si
Losartán 100 mg Lab. Chile	-0.031107	-0.031663	-0.098437	Si
Novsar (losartán) 50 mg Medinova	-0.016378	-0.017514	-0.114400	Si
Lipotropic (atorvastatina) 20 mg	-0.042246	-0.050740	-0.163408	Si
Losapress 100 mg (losartán potásico)	-0.028910	-0.028983	-0.116145	Si

Cuadro 4.14: Valores de los límites superiores para SABE, según criterio de FDA.

Se observa mediante estos resultados, que la condición de bioequivalencia, de acuerdo a la FDA, se cumple en los 6 fármacos, ya que todos los límites superiores del intervalo de confianza son negativos.

En el cuadro 4.15 se muestran los valores de los límites superiores para la bioequivalencia promedio escalada, según el criterio de la EMA.

Fármaco	Límite superior			Cumple SABLE
	$\ln ABC_{0 \rightarrow t}$	$\ln ABC_{0 \rightarrow \infty}$	$\ln C_{max}$	
Atorvastatina 20 mg Opko	-0.016578	-0.013961	-0.096160	Si
Losartán 50 mg Mintlab	-0.008622	-0.008932	-0.048671	Si
Losartán 100 mg Lab. Chile	-0.020230	-0.020488	-0.066452	Si
Novsar (losartán) 50 mg Medinova	-0.011496	-0.012286	-0.082193	Si
Lipotropic (atorvastatina) 20 mg	-0.029451	-0.033575	-0.098742	Si
Losapress 100 mg (losartán potásico)	-0.019599	-0.020702	-0.075106	Si

Cuadro 4.15: Valores de los límites superiores para SABLE, según criterio de EMA.

Al igual que en el caso anterior, el criterio de la EMA arroja como resultado que todos los fármacos cumplen con la condición de bioequivalencia, debido a que todos sus límites superiores del intervalo de confianza son negativos.

A efectos de conocer qué tipo de bioequivalencia (bioequivalencia promedio o bioequivalencia promedio escalada) tuvo un mejor desempeño, se calculó la potencia para declarar bioequivalencia, para los intervalos de confianza bajo la condición de ABE y los intervalos de confianza escalados bajo las restricciones de la FDA y la EMA. Los resultados se muestran en la sección 4.10 que se presenta a continuación.

## 4.10. Comparación de la bioequivalencia promedio con la bioequivalencia promedio escalada

Todo estudio de bioequivalencia debería tener al menos una potencia deseable superior al 80 %. A continuación se presentan los resultados del cálculo de la potencia para declarar bioequivalencia en los 6 fármacos, tanto en la bioequivalencia promedio como en la bioequivalencia promedio escalada, en ambos criterios regulatorios, FDA y EMA.

Para establecer la comparación entre los IC de ABE y los IC de SABE, es necesario recurrir al cálculo de la potencia para declarar BE. De acuerdo a esto, se programó en R-project el cálculo de la potencia para declarar BE a partir de métodos *bootstrap*, considerando 10.000 réplicas.

- Según criterio de la FDA:

Fármaco	Diseño	Métrica farmacocinética					
		$\ln C_{max}$		$\ln ABC_{0 \rightarrow t}$		$\ln ABC_{0 \rightarrow \infty}$	
		ABE	SABE	ABE	SABE	ABE	SABE
Atorvastatina 20 mg Opko	2 × 2	99 %	92 %	99 %	42 %	99 %	55 %
Losartán 50 mg Mintlab	2 × 2	51 %	40 %	99 %	16 %	99 %	15 %
Losartán 100 mg Lab. Chile	2 × 2	44 %	44 %	93 %	29 %	93 %	29 %
Novsar (losartán) 50 mg Medinova	2 × 2	78 %	88 %	99 %	51 %	99 %	54 %
Lipotropic (atorvastatina) 20 mg	3 × 3	31 %	81 %	97 %	76 %	93 %	81 %
Losapress 100 mg (losartán potásico)	3 × 3	49 %	91 %	98 %	78 %	99 %	73 %

Cuadro 4.16: Comparación entre las potencias obtenidas por ambos tipos de bioequivalencias de acuerdo al criterio de la FDA.



En los diseños  $2 \times 2$  según el cuadro 4.16:

- Se observa un comportamiento diferente tanto en las áreas bajo la curva como en las concentraciones máximas.
- Los valores de potencia para las áreas bajo la curva fueron más altos para ABE en todos los casos con respecto a SABE, y las diferencias son bastante notorias.
- Los valores de potencia de las concentraciones máximas tienen un comportamiento particular. No se visualiza un patrón regular, ya que, en dos casos ABE presentó una mayor potencia, en un caso SABE presentó una mayor potencia, y en un caso fue igual en ABE y en SABE. Cabe destacar también, que en los 4 casos de las concentraciones máximas, las diferencias entre las potencias de ABE y SABE son bastante menores, no superando las 11 unidades de diferencia.

Si se analiza ahora el diseño cruzado replicado  $3 \times 3$ :

- El comportamiento en relación al diseño  $2 \times 2$  es totalmente diferente.
- Las áreas bajo la curva presentan valores de potencia mayores para ABE, pero las diferencias con respecto a SABE no son significativas.
- Las potencias de las concentraciones máximas tienen valores mayores en SABE en ambos casos, y las diferencias entre ABE y SABE son significativas.

En general, se observa que el hecho de replicar un diseño aumenta la potencia para declarar BE en el caso de la bioequivalencia promedio escalada.

- Según criterio de la EMA:

Fármaco	Diseño	Métrica farmacocinética					
		$\ln C_{max}$		$\ln ABC_{0 \rightarrow t}$		$\ln ABC_{0 \rightarrow \infty}$	
		ABE	SABE	ABE	SABE	ABE	SABE
Atorvastatina 20 mg Opko	2 × 2	99 %	85 %	99 %	31 %	99 %	43 %
Losartán 50 mg Mintlab	2 × 2	51 %	29 %	99 %	9 %	99 %	8 %
Losartán 100 mg Lab. Chile	2 × 2	44 %	33 %	93 %	20 %	93 %	20 %
Novsar (losartán) 50 mg Medinova	2 × 2	78 %	78 %	99 %	40 %	99 %	42 %
Lipotropic (atorvastatina) 20 mg	3 × 3	31 %	68 %	97 %	65 %	93 %	71 %
Losapress 100 mg (losartán potásico)	3 × 3	49 %	81 %	98 %	67 %	99 %	61 %

Cuadro 4.17: Comparación entre las potencias obtenidas por ambos tipos de bioequivalencias de acuerdo al criterio de la EMA.

Según el criterio de la EMA, se destaca lo siguiente.

En los diseños 2 × 2:

- Las potencias en las áreas bajo la curva son mayores para ABE con respecto a SABE, presentando diferencias significativas entre las potencias de ABE y SABE.
- Las potencias de las concentraciones máximas se comportan de modo diferente. En un caso las potencias son de igual valor, y en tres casos las potencias son mayores en ABE con respecto a SABE. Estas diferencias entre potencias no son significativas.

Analizando el caso de los diseños 3 × 3:

- Las potencias de las áreas bajo la curva son mayores en ABE, pero las diferencias que presenta con respecto a SABE son de 20 unidades aproximadamente.
- Las potencias de las concentraciones máximas son mayores en SABE, presentando diferencias significativas con respecto a ABE.

En general, con respecto a los criterios de la FDA y la EMA, se observa que los valores de potencia obtenidos para SABE en ambas métricas farmacocinéticas (área bajo la curva y concentración máxima) son mayores con el criterio de la FDA y menores con el criterio de la EMA. Esto demuestra que el criterio de la EMA es mucho más conservativo con respecto al criterio de la FDA, lo cuál avala lo dicho en la literatura.

A continuación se presenta de forma gráfica la comparación de SABE con respecto a la potencia obtenida entre los criterios de la FDA y la EMA para cada métrica farmacocinética.

- Métrica farmacocinética  $C_{max}$ :

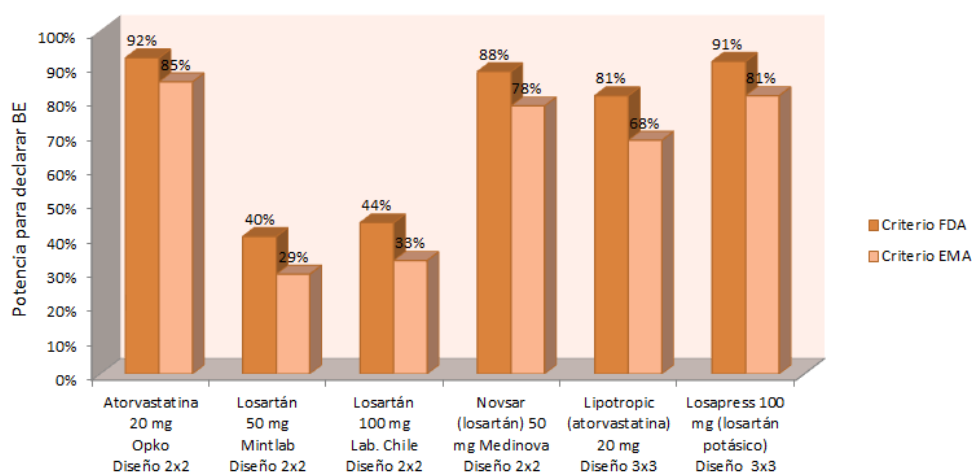


Figura 4.1: Comparación entre las potencias de la métrica farmacocinética  $C_{max}$  de SABE dadas por el criterio de la FDA y de la EMA.

Se observa que para  $C_{max}$ , la potencia para declarar BE bajo los criterios de la EMA son menores en comparación con los criterios de la FDA, luego la regulación europea es la más exigente y conservativa.

Los fármacos que presentan una potencia más baja corresponden a Losartán 50 mg y Losartán 100 mg, siendo los valores de la FDA mayores con un 40% y 44%, respectivamente.

El fármaco con una potencia mayor para ambos criterios, corresponde a Atorvastatina 20 mg Opko, con un 92% y 85% para los criterios de FDA y EMA, respectivamente.

■ Métrica farmacocinética  $ABC_{0 \rightarrow t}$ :

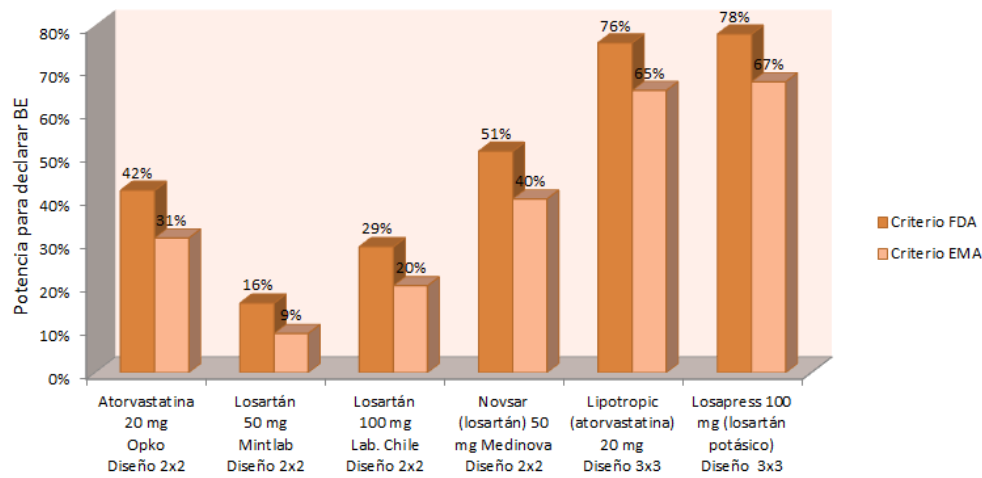


Figura 4.2: Comparación entre las potencias de la métrica farmacocinética  $ABC_{0 \rightarrow t}$  de SABE dadas por el criterio de la FDA y de la EMA.

Para la métrica farmacocinética  $ABC_{0 \rightarrow t}$  nuevamente se observa que el criterio de la EMA presenta potencias más bajas en comparación con el criterio de la FDA.

Los fármacos que presentan una gran potencia corresponden a Lipotropic 20 mg y Losapress 100 mg, siendo estas superiores al 70 % para la FDA, pero para la EMA bordean el 65 %.

El fármaco con una menor potencia corresponde a Losartán 50 mg Mintlab, con sólo un 16 % para el criterio de la FDA y un 9 % para el criterio de la EMA, valores bajísimos para un estudio de BE.

■ Métrica farmacocinética  $ABC_{0 \rightarrow \infty}$ :

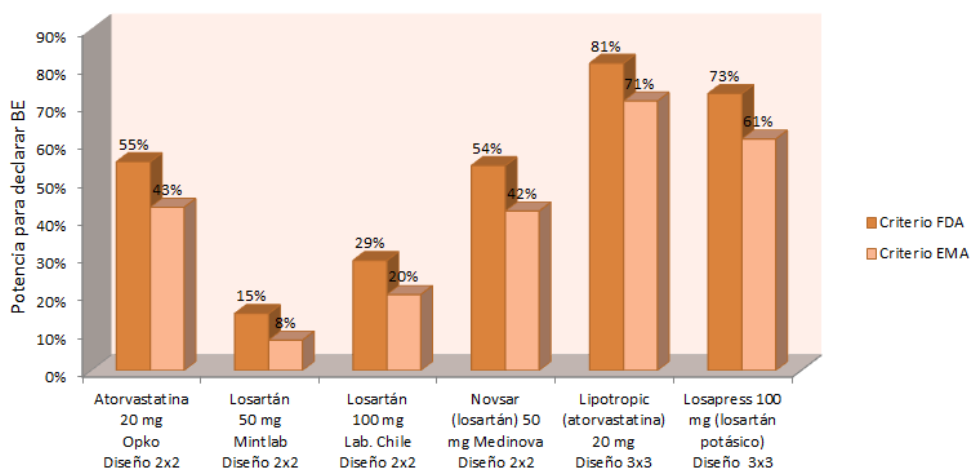


Figura 4.3: Comparación entre las potencias de la métrica farmacocinética  $ABC_{0 \rightarrow \infty}$  de SABE dadas por el criterio de la FDA y de la EMA.

Por último, para la métrica farmacocinética  $ABC_{0 \rightarrow \infty}$ , como era de esperar, presenta también valores menores según el criterio de la EMA, respecto de la FDA.

Se observa que el fármaco Losartán 50 mg obtuvo una potencia bajísima, con un 15 % y 8 % para los criterios de FDA y EMA, respectivamente.

Las potencias mayores son para Lipotropic 20 mg con un 81 % y 71 % para el criterio de la FDA y EMA, respectivamente.

En general, observando las tres métricas farmacocinéticas, se obtiene que el criterio de la FDA presenta mayores valores de potencia en comparación con los valores de potencia obtenidos por el criterio de la EMA.

# Capítulo 5

## Conclusiones

Los fármacos de alta variabilidad constituyen un gran problema a la hora de declarar su bioequivalencia. En este trabajo de titulación se trabajó con seis bases de datos correspondientes a seis fármacos altamente variables entregadas por el ISP, donde se les calculó su bioequivalencia promedio (ABE) y su bioequivalencia promedio escalada (SABE), según criterio de escalamiento con respecto al fármaco de referencia. De los seis fármacos analizados, cuatro de ellos son antihipertensivos y los otros dos son hipocolesterolémicos, utilizados en dos patologías de gran importancia en nuestro país en el ámbito de la salud pública, arrojando valores de 26.9% y 38.5%, respectivamente (según encuesta de salud 2009-2010). Por lo tanto, un estudio de BE en estos tipos de fármacos, constituye un gran desafío y debe cumplir con aspectos del diseño y metodologías adecuadas para su determinación.

Las métricas farmacocinéticas que sirven de base para el análisis de la BE tanto para ABE como para SABE corresponden a tres: la concentración máxima ( $C_{max}$ ), el área bajo la curva del tiempo 0 al tiempo  $t$  ( $ABC_{0 \rightarrow t}$ ) y el área bajo la curva del tiempo 0 al tiempo infinito ( $ABC_{0 \rightarrow \infty}$ ), las cuales presentan diferencias entre los valores del fármaco de referencia y el fármaco de prueba. En algunos casos estas diferencias son muy apreciables. Ello da cuenta de forma indirecta de la alta complejidad de analizarlos desde el punto de vista estadístico.

El diseño experimental más utilizado en el cálculo de la BE, es el diseño cruzado de  $2 \times 2$ . Los diseños cruzados replicados no están ampliamente difundidos y son poco utilizados en los estudios de BE.

Es altamente conveniente que se informe dentro del dossier o expediente de bioequivalencia un resumen de los diferentes efectos asociados al diseño experimental utilizado. Esto puede constituir una herramienta para evaluar el proceso de recolección de datos y en forma indirecta informar acerca de

la planificación del estudio. La medición de estos efectos constituye una herramienta de control de calidad del estudio, en particular del proceso de recolección de datos.

En relación a los valores más altos de  $CV_{intrasujeto}$ , estos correspondieron a la métrica farmacocinética  $C_{max}$ , lo cual concuerda con la literatura. Para un mismo principio activo los valores mayores de  $CV_{intrasujeto}$  se produjeron bajo un diseño replicado.

El cálculo del tamaño muestral ( $n$ ) y la potencia de un estudio de ABE se basa en el  $CV_{intrasujeto}$ . De las tres métricas farmacocinéticas, debe considerarse la métrica con mayor variabilidad a efectos de calcular el  $n$  teórico ideal.

El tamaño muestral promedio de los 6 estudios fue de 48 voluntarios, con un rango que va desde 36 a 72 voluntarios.

Los tamaños muestrales calculados teóricamente tomando en cuenta el  $CV_{intrasujeto}$ , muestran valores muy elevados, dando cuenta así, de lo poco realista que resulta este cálculo. El costo de un estudio de BE, hace improbable utilizar tamaños muestrales sobre 70 o más voluntarios. Una forma posible de manejar el tamaño de muestra podría ser el considerar replicar el diseño experimental (diseño cruzado  $2 \times 2$ ). Por otro lado, el hecho de calcular tamaños muestrales de acuerdo a una potencia fijada al 80 %, provocó disminuir notablemente los tamaños muestrales en los diseños replicados. En el caso de  $C_{max}$ , estos tamaños muestrales eran mayores que las áreas bajo la curva, debido a que  $C_{max}$  presenta mayores variabilidades.

Al construir el IC para ABE se apreció que esos intervalos presentaban una amplitud pequeña, y se hubiese esperado que estas amplitudes fueran algo mayores dado que se están estudiando los fármacos de alta variabilidad. Los intervalos de ABE de mayor amplitud se obtuvieron para  $C_{max}$  con respecto a las áreas bajo la curva.

Al aplicar SABE, todos los estudios fueron BE, sin embargo, al comparar su desempeño en términos de la potencia (% de declaración de BE), se observó que los valores de potencia no fueron los adecuados. Los estudios con diseños cruzados replicados presentaban una potencia mayor con respecto a los diseños  $2 \times 2$ . Esto se ratifica en la literatura, debido a que los fármacos HV deben tratarse preferentemente con diseños replicados para obtener mejores resultados tanto en ABE como en SABE.

Al comparar las potencias para declarar BE, según los criterios de FDA y EMA, se obtuvo algunos resultados interesantes, tales como:

- Un comportamiento diferente según si el diseño cruzado es replicado o no
- Un comportamiento diferente según la métrica farmacocinética estudiada.

La hipótesis planteada inicialmente respecto de que un escalamiento en la determinación de la bioequivalencia permitía mejorar el procedimiento actual clásico, se apreció sólo en los diseños replicados. Aún así, sólo se tuvo dos bases de datos con ese tipo de diseños replicados.

Sería interesante como continuación de este trabajo de titulación realizar más estudios sobre escalamientos, y a la vez que se trabaje con una base de datos más amplia, ya que con 6 fármacos no es mucho lo que puede llegar a concluirse.



# Apéndice A

## Código en R-project

### A.1. Determinación del tamaño muestral y de la potencia

```
library(power.TOST)
```

```
sampleN.TOST(alpha = 0.05, targetpower = 0.8, logscale = TRUE, theta0,  
theta1, theta2, CV, design = "2x2", method="exact", robust=FALSE,  
print = TRUE, details = FALSE, imax=100)
```

```
samplN.TOST(CV=., n=.)
```

```
power.TOST(alpha = 0.05, logscale = TRUE, theta1, theta2, theta0, CV, n,  
design = "2x2", method="exact", robust=FALSE)
```

```
power.TOST(CV=., n=.)
```

### A.2. Determinación de ABE y SABE en los fármacos

#### A.2.1. Variable $ABC_{0 \rightarrow t}$

```
library(foreign)  
setwd("Dirección")
```

```

excel <- read.csv(file="Fármaco.csv")

ICcorto90_sabe <- function(dataset, indices) {

  dataset <- dataset[indices,]

  ## IC corto clasico
  media.ref <- mean(dataset[dataset[,"sequence"]==dataset[,"period"],
    "respuesta"])
  media.test <- mean(dataset[dataset[,"sequence"]!=dataset[,"period"],
    "respuesta"])
  difmedias <- (media.test-media.ref)
  razon.medias <- (media.test/media.ref)
  p2.1<-subset(dataset, period==2 & sequence==1, select=c(respuesta))
  p1.1<-subset(dataset, period==1 & sequence==1, select=c(respuesta))
  difp.1<- 0.5*(p2.1$respuesta-p1.1$respuesta)
  meandifp.1<- mean(difp.1)
  p2.2<-subset(dataset, period==2 & sequence==2, select=c(respuesta))
  p1.2<-subset(dataset, period==1 & sequence==2, select=c(respuesta))
  difp.2<- 0.5*(p2.2$respuesta-p1.2$respuesta)
  meandifp.2<- mean(difp.2)
  sumdifp.1<-sum((difp.1-meandifp.1)^2)
  sumdifp.2<-sum((difp.2-meandifp.2)^2)
  n1 <- sum(sequence==1 & period==1)
  n2 <- sum(sequence==2 & period==1)
  sigma2d<- (1/(n1+n2-2))*(sumdifp.1+sumdifp.2)
  sigmad <- sqrt(sigma2d)
  tteor <- (qt(0.90, df=n1+n2-2))
  raiz <- sqrt((1/n1)+(1/n2))
  # limites calculados para la dif de medias (Yt-Yr)
  li.dif <-((difmedias)-(tteor*sigmad*raiz))
  ls.dif <- ((difmedias)+(tteor*sigmad*raiz))
  # limites teoricos para la dif de medias (Yt-Yr)
  li.t.dif <- (-0.2*media.ref)
  ls.t.dif <- (0.2*media.ref)
  # limites calculados para la razon de medias(Yt/Yr)
  li.razon <- (((difmedias)-(tteor*sigmad*raiz))
  /media.ref)+1)*100
  ls.razon <- (((difmedias)+(tteor*sigmad*raiz))
  /media.ref)+1)*100
  # limites teoricos para la razon de medias (Yt/Yr)
  li.t.razon <- 80
  ls.t.razon <- 125
}

```

```

# Porcentaje BE para la diferencia y razon
beicc.dif <- ifelse((li.dif >= li.t.dif) && (ls.dif <= ls.t.dif),
1, 0)
beicc.razon <- ifelse((li.razon >= li.t.razon) &&
(ls.razon <= ls.t.razon), 1, 0)
# Recubrimiento para la diferencia y razon
recicc.dif <- ifelse(( li.dif <= -20 && ls.dif >= -20 ), 1, 0)
recicc.razon <- ifelse(( abs(li.razon) <= 80 && abs(ls.razon)
>= 80), 1,0)

##### calculo escalado

lncmax_R <- (dataset[dataset[,"sequence"]==dataset[,"period"],
"respuesta"])
lncmax_T <- (dataset[dataset[,"sequence"]!=dataset[,"period"],
"respuesta"])

Delta <- lncmax_T - lncmax_R
SE = sd(Delta) / sqrt(length(Delta))

Delta <- mean(lncmax_T - lncmax_R)

options(contrasts=c("contr.sum", "contr.poly"))

dataset$fid<-as.factor(dataset$id)
md.anova <-summary(aov(respuesta~treat+period+Error(fid), data=dataset))
md.anova

sigma.wres <- sqrt((unlist(md.anova[[2]]))[9]) #Mean Sq Residuals

theta_s_EMA <- log(1.25) / 0.294
theta_s_EMA
theta_s_FDA <- log(1.25) / 0.25
theta_s_FDA

N <- length(respuesta) #N <- length(lncmax)
SeqN <-2
Em <-Delta^2
Es_FDA <-theta_s_FDA^2*sigma.wres^2
Es_EMA <-theta_s_EMA^2*sigma.wres^2
Df <-N - SeqN
alpha <-0.9
Cm <-(abs (Delta + SE*qt(alpha, Df)))^2

```

```

Cs_FDA <-theta_s_FDA^2*Df*sigma.wres^2/qchisq(alpha, Df)
Cs_EMA <-theta_s_EMA^2*Df*sigma.wres^2/qchisq(alpha, Df)
Lm <-(Cm - Em)^2
Ls_FDA <-(Cs_FDA - Es_FDA)^2
Ls_EMA <-(Cs_EMA - Es_EMA)^2
ScabeCI_FDA <-Em - Es_FDA + sqrt(Lm + Ls_FDA)
ScabeCI_EMA <-Em - Es_EMA + sqrt(Lm + Ls_EMA)

return(c(cbind(media.ref, media.test,difmedias,razon.medias,
              li.dif,ls.dif,li.t.dif,ls.t.dif,
              li.razon,ls.razon,
              beicc.dif,beicc.razon, recicc.dif, recicc.razon,
              theta_s_FDA, theta_s_EMA,
              Es_FDA, Es_EMA,
              ScabeCI_FDA, ScabeCI_EMA)))
}

excel2 <- excel
#excel2$sequence <- excel$seq
excel2$respuesta <- excel$lnaucinf_obs

attach(excel2)

##### ESTUDIO SIMULACION PARA INTERVALO CONFIANZA CLASICO 90%
##### E INTERVALO CONFIANZA ESCALADO segun FDA y EMA

library(boot)
set.seed(123456)
excel2.boot <- boot(excel2, ICcorto90_sabe, strata=excel2[,2],10000)
colnames(excel2.boot$t) <- c("media.ref", "media.test","difmedias",
                           "razon.medias",
                           "li.dif","ls.dif","li.t.dif","ls.t.dif",
                           "li.razon","ls.razon",
                           "beicc.dif","beicc.razon", "recicc.dif",
                           "recicc.razon",
                           "theta_s_FDA", "theta_s_EMA",
                           "Es_FDA", "Es_EMA",
                           "ScabeCI_FDA", "ScabeCI_EMA")

head(excel2.boot$t)

#Porcentaje ScabeCI_FDA

```

```

BE_sabe_FDA<-mean(ifelse(excel2.boot$t[,19]<0,1,0))*100
BE_sabe_FDA

#Porcentaje ScabeCI_EMA
BE_sabe_EMA<-mean(ifelse(excel2.boot$t[,20]<0,1,0))*100
BE_sabe_EMA

## TO = VALORES SIN REMUESTREAR
## T VALORES CON REMUESTREO

save(excel2.boot, file="Simulacion1_lnaucinf_obs.RData")

```

### A.2.2. Variable $ABC_{0 \rightarrow \infty}$

```

library(foreign)
setwd("Dirección")
excel <- read.csv(file="Fármaco.csv")

ICcorto90_sabe <- function(dataset, indices) {

  dataset <- dataset[indices,]

  ## IC corto clasico
  media.ref <- mean(dataset[dataset[,"sequence"]==dataset[,"period"],
                    "respuesta"])
  media.test <- mean(dataset[dataset[,"sequence"]!=dataset[,"period"],
                    "respuesta"])
  difmedias <- (media.test-media.ref)
  razon.medias <- (media.test/media.ref)
  p2.1<-subset(dataset, period==2 & sequence==1, select=c(respuesta))
  p1.1<-subset(dataset, period==1 & sequence==1, select=c(respuesta))
  difp.1<- 0.5*(p2.1$respuesta-p1.1$respuesta)
  meandifp.1<- mean(difp.1)
  p2.2<-subset(dataset, period==2 & sequence==2, select=c(respuesta))
  p1.2<-subset(dataset, period==1 & sequence==2, select=c(respuesta))
  difp.2<- 0.5*(p2.2$respuesta-p1.2$respuesta)
  meandifp.2<- mean(difp.2)
  sumdifp.1<-sum((difp.1-meandifp.1)^2)
  sumdifp.2<-sum((difp.2-meandifp.2)^2)
  n1 <- sum(sequence==1 & period==1)
  n2 <- sum(sequence==2 & period==1)
}

```

```

sigma2d<- (1/(n1+n2-2))*(sumdifp.1+sumdifp.2)
sigmad <- sqrt(sigma2d)
t teor <- (qt(0.90, df=n1+n2-2))
raiz <- sqrt((1/n1)+(1/n2))
# limites calculados para la dif de medias (Yt-Yr)
li.dif <-((difmedias)-(t teor*sigmad*raiz))
ls.dif <- ((difmedias)+(t teor*sigmad*raiz))
# limites teoricos para la dif de medias (Yt-Yr)
li.t.dif <- (-0.2*media.ref)
ls.t.dif <- (0.2*media.ref)
# limites calculados para la razon de medias(Yt/Yr)
li.razon <- (((difmedias)-(t teor*sigmad*raiz))/media.ref)+1)*100
ls.razon <- (((difmedias)+(t teor*sigmad*raiz))/media.ref)+1)*100
# limites teoricos para la razon de medias (Yt/Yr)
li.t.razon <- 80
ls.t.razon <- 125
# Porcentaje BE para la diferencia y razon
beicc.dif <- ifelse((li.dif >= li.t.dif) && (ls.dif <= ls.t.dif),
1, 0)
beicc.razon <- ifelse((li.razon >= li.t.razon) &&
(ls.razon <= ls.t.razon),
1, 0)
# Recubrimiento para la diferencia y razon
recicc.dif <- ifelse(( li.dif <= -20 && ls.dif >= -20 ), 1, 0)
recicc.razon <- ifelse(( abs(li.razon) <= 80 && abs(ls.razon) >= 80),
1,0)

##### calculo escalado

lncmax_R <- (dataset[dataset[,"sequence"]==dataset[,"period"],
"respuesta"])
lncmax_T <- (dataset[dataset[,"sequence"]!=dataset[,"period"],
"respuesta"])

Delta <- lncmax_T - lncmax_R
SE = sd(Delta) / sqrt(length(Delta))

Delta <- mean(lncmax_T - lncmax_R)

options(contrasts=c("contr.sum", "contr.poly"))

dataset$fid<-as.factor(dataset$id)
md.anova <-summary(aov(respuesta~treat+period+Error(fid), data=dataset))

```

```

md.anova

sigma.wres <- sqrt((unlist(md.anova[[2]]))[9]) #Mean Sq Residuals

theta_s_EMA <- log(1.25) / 0.294
theta_s_EMA
theta_s_FDA <- log(1.25) / 0.25
theta_s_FDA

N <- length(respuesta) #N <- length(lncmax)
SeqN <-2
Em <-Delta^2
Es_FDA <-theta_s_FDA^2*sigma.wres^2
Es_EMA <-theta_s_EMA^2*sigma.wres^2
Df <-N - SeqN
alpha <-0.9
Cm <-(abs (Delta + SE*qt(alpha, Df)))^2
Cs_FDA <-theta_s_FDA^2*Df*sigma.wres^2/qchisq(alpha, Df)
Cs_EMA <-theta_s_EMA^2*Df*sigma.wres^2/qchisq(alpha, Df)
Lm <-(Cm - Em)^2
Ls_FDA <-(Cs_FDA - Es_FDA)^2
Ls_EMA <-(Cs_EMA - Es_EMA)^2
ScabeCI_FDA <-Em - Es_FDA + sqrt(Lm + Ls_FDA)
ScabeCI_EMA <-Em - Es_EMA + sqrt(Lm + Ls_EMA)

return(c(cbind(media.ref, media.test,difmedias,
              razon.medias,
              li.dif,ls.dif,li.t.dif,ls.t.dif,
              li.razon,ls.razon,
              beicc.dif,beicc.razon, recicc.dif,
              recicc.razon,
              theta_s_FDA, theta_s_EMA,
              Es_FDA, Es_EMA,
              ScabeCI_FDA, ScabeCI_EMA)))
}

excel2 <- excel
#excel2$sequence <- excel$seq
excel2$respuesta <- excel$lnauclast

attach(excel2)

```

```
##### ESTUDIO SIMULACION PARA INTERVALO CONFIANZA CLASICO 90%
##### E INTERVALO CONFIANZA ESCALADO segun FDA y EMA

library(boot)
set.seed(123456)
excel2.boot <- boot(excel2, ICcorto90_sabe, strata=excel2[,2],10000)
colnames(excel2.boot$t) <- c("media.ref", "media.test","difmedias",
                             "razon.medias",
                             "li.dif","ls.dif","li.t.dif","ls.t.dif",
                             "li.razon","ls.razon",
                             "beicc.dif","beicc.razon", "recicc.dif",
                             "recicc.razon",
                             "theta_s_FDA", "theta_s_EMA",
                             "Es_FDA", "Es_EMA",
                             "ScabeCI_FDA", "ScabeCI_EMA")

head(excel2.boot$t)

#Porcentaje ScabeCI_FDA
BE_sabe_FDA<-mean(ifelse(excel2.boot$t[,19]<0,1,0))*100
BE_sabe_FDA

#Porcentaje ScabeCI_EMA
BE_sabe_EMA<-mean(ifelse(excel2.boot$t[,20]<0,1,0))*100
BE_sabe_EMA

## TO = VALORES SIN REMUESTREAR
## T VALORES CON REMUESTREO

save(excel2.boot, file="Simulacion1_lnauclast.RData")
```

### A.2.3. Variable $C_{max}$

```
library(foreign)
setwd("Dirección")
excel <- read.csv(file="Fármaco.csv")

ICcorto90_sabe <- function(dataset, indices) {

  dataset <- dataset[indices,]
```



```

## IC corto clasico
media.ref <- mean(dataset[dataset[,"sequence"]==dataset[,"period"],
"respuesta"])
media.test <- mean(dataset[dataset[,"sequence"]!=dataset[,"period"],
"respuesta"])
difmedias <- (media.test-media.ref)
razon.medias <- (media.test/media.ref)
p2.1<-subset(dataset, period==2 & sequence==1, select=c(respuesta))
p1.1<-subset(dataset, period==1 & sequence==1, select=c(respuesta))
  difp.1<- 0.5*(p2.1$respuesta-p1.1$respuesta)
  meandifp.1<- mean(difp.1)
p2.2<-subset(dataset, period==2 & sequence==2, select=c(respuesta))
p1.2<-subset(dataset, period==1 & sequence==2, select=c(respuesta))
  difp.2<- 0.5*(p2.2$respuesta-p1.2$respuesta)
  meandifp.2<- mean(difp.2)
sumdifp.1<-sum((difp.1-meandifp.1)^2)
sumdifp.2<-sum((difp.2-meandifp.2)^2)
n1 <- sum(sequence==1 & period==1)
n2 <- sum(sequence==2 & period==1)
sigma2d<- (1/(n1+n2-2))*(sumdifp.1+sumdifp.2)
sigmad <- sqrt(sigma2d)
tteor <- (qt(0.90, df=n1+n2-2))
raiz <- sqrt((1/n1)+(1/n2))
# limites calculados para la dif de medias (Yt-Yr)
  li.dif <-((difmedias)-(tteor*sigmad*raiz))
  ls.dif <- ((difmedias)+(tteor*sigmad*raiz))
# limites teoricos para la dif de medias (Yt-Yr)
  li.t.dif <- (-0.2*media.ref)
  ls.t.dif <- (0.2*media.ref)
# limites calculados para la razon de medias(Yt/Yr)
  li.razon <- (((difmedias)-(tteor*sigmad*raiz))/media.ref)+1)*100
  ls.razon <- (((difmedias)+(tteor*sigmad*raiz))/media.ref)+1)*100
# limites teoricos para la razon de medias (Yt/Yr)
  li.t.razon <- 80
  ls.t.razon <- 125
# Porcentaje BE para la diferencia y razon
beicc.dif <- ifelse((li.dif >= li.t.dif) && (ls.dif <= ls.t.dif),
1, 0)
beicc.razon <- ifelse((li.razon >= li.t.razon) &&
(ls.razon <= ls.t.razon), 1, 0)
# Recubrimiento para la diferencia y razon
recicc.dif <- ifelse(( li.dif <= -20 && ls.dif >= -20 ), 1, 0)

```

```

recicc.razon <- ifelse(( abs(li.razon) <= 80
&& abs(ls.razon) >= 80), 1,0)

##### calculo escalado

lncmax_R <- (dataset[dataset[,"sequence"]==dataset[,"period"],
"respuesta"])
lncmax_T <- (dataset[dataset[,"sequence"]!=dataset[,"period"],
"respuesta"])

Delta <- lncmax_T - lncmax_R
SE = sd(Delta) / sqrt(length(Delta))

Delta <- mean(lncmax_T - lncmax_R)

options(contrasts=c("contr.sum", "contr.poly"))

dataset$fid<-as.factor(dataset$id)
md.anova <-summary(aov(respuesta~treat+period+Error(fid), data=dataset))
md.anova

sigma.wres <- sqrt((unlist(md.anova[[2]]))[9]) #Mean Sq Residuals

theta_s_EMA <- log(1.25) / 0.294
theta_s_EMA
theta_s_FDA <- log(1.25) / 0.25
theta_s_FDA

N <- length(respuesta) #N <- length(lncmax)
SeqN <-2
Em <-Delta^2
Es_FDA <-theta_s_FDA^2*sigma.wres^2
Es_EMA <-theta_s_EMA^2*sigma.wres^2
Df <-N - SeqN
alpha <-0.9
Cm <-(abs (Delta + SE*qt(alpha, Df)))^2
Cs_FDA <-theta_s_FDA^2*Df*sigma.wres^2/qchisq(alpha, Df)
Cs_EMA <-theta_s_EMA^2*Df*sigma.wres^2/qchisq(alpha, Df)
Lm <-(Cm - Em)^2
Ls_FDA <-(Cs_FDA - Es_FDA)^2
Ls_EMA <-(Cs_EMA - Es_EMA)^2
ScabeCI_FDA <-Em - Es_FDA + sqrt(Lm + Ls_FDA)
ScabeCI_EMA <-Em - Es_EMA + sqrt(Lm + Ls_EMA)

```

```

    return(c(cbind(media.ref, media.test,difmedias,razon.medias,
                  li.dif,ls.dif,li.t.dif,ls.t.dif,
                  li.razon,ls.razon,
                  beicc.dif,beicc.razon, recicc.dif, recicc.razon,
                  theta_s_FDA, theta_s_EMA,
                  Es_FDA, Es_EMA,
                  ScabeCI_FDA, ScabeCI_EMA)))
  }

excel2 <- excel
#excel2$sequence <- excel$seq
excel2$respuesta <- excel$lnemax

attach(excel2)

##### ESTUDIO SIMULACION PARA INTERVALO CONFIANZA CLASICO 90%
##### E INTERVALO CONFIANZA ESCALADO segun FDA y EMA

library(boot)
set.seed(123456)
excel2.boot <- boot(excel2, ICcorto90_sabe, strata=excel2[,2],10000)
colnames(excel2.boot$t) <- c("media.ref", "media.test","difmedias",
                           "razon.medias",
                           "li.dif","ls.dif","li.t.dif","ls.t.dif",
                           "li.razon","ls.razon",
                           "beicc.dif","beicc.razon", "recicc.dif",
                           "recicc.razon",
                           "theta_s_FDA", "theta_s_EMA",
                           "Es_FDA", "Es_EMA",
                           "ScabeCI_FDA", "ScabeCI_EMA")

head(excel2.boot$t)

#Porcentaje ScabeCI_FDA
BE_sabe_FDA<-mean(ifelset(excel2.boot$t[,19]<0,1,0))*100
BE_sabe_FDA

#Porcentaje ScabeCI_EMA
BE_sabe_EMA<-mean(ifelset(excel2.boot$t[,20]<0,1,0))*100
BE_sabe_EMA

```

```
## T0 = VALORES SIN REMUESTREAR  
## T VALORES CON REMUESTREO  
  
save(excel2.boot, file="Simulacion1_lncmax.RData")
```

# Apéndice B

## Código en Stata

### B.1. Determinación de ANOVA y ABE en los fármacos

```
clear all

cd "Dirección"

insheet using "fármaco.csv"

* Arreglos en base de datos

replace sequence = 1 if seq == "RT"
replace sequence = 2 if seq == "TR"

replace treat = 1 if treat_a == "R"
replace treat = 2 if treat_a == "T"

drop treat_a
sort seq, stable
replace carry = 0 if period == 1

sort sequence id

sort sequence id
by id: sort seq, row
sort id: by seq, row

g treat_a = 1 if treat == "R"
```

```
replace treat_a = 2 if treat == "T"

drop treat

* Cálculo de ANOVA y ABE

pkcross lncmax
pkcross lncmax, param(1)
pkcross lnauclast
pkcross lnauclast, param(1)
pkcross lnaucinf_obs
pkcross lnaucinf_obs, param(1)

pkequiv lncmax treat period sequence id
pkequiv lncmax treat period sequence id, tost
pkequiv lnauclast treat period sequence id
pkequiv lnauclast treat period sequence id, tost
pkequiv lnaucinf_obs treat period sequence id
pkequiv lnaucinf_obs treat period sequence id, tost
```

# Apéndice C

## Fórmulas

### C.1. Cálculo del escalado en SABE: Escalado con la variación intrasujeto del producto de referencia

El cálculo de la bioequivalencia promedio escalada se calcula a través del “Escalado con la variación intrasujeto del producto de referencia”, el que se muestra a continuación.

Se empieza con el método regulatorio de SABE:

$$-\theta_s \leq \frac{\mu_T - \mu_R}{\sigma_W} \leq \theta_s \quad . \quad (C.1)$$

Por razones estadísticas, se usa la forma cuadrada de la ecuación C.1

$$\frac{(\mu_T - \mu_R)^2}{\sigma_W^2} \leq \theta_s^2 \quad .$$

Reorganizando, se tiene

$$(\mu_T - \mu_R)^2 - \theta_s^2 \times \sigma_W^2 \leq 0 \quad .$$

En los cálculos, se deben usar los valores estimados (E) de los parámetros:

$$E_m = (m_T - m_R)^2$$

y

$$E_s = \theta_s^2 \times s_W^2 \quad .$$

Las distribuciones de  $E_m$  y  $E_s$  son conocidas, y sus límites superiores de confianza pueden ser calculados por la fórmula estándar

$$C_m = (|m_T - m_R| + t_{\alpha, N-S} \times SE)^2$$

y

$$C_s = \frac{\theta_s^2 \times (N - S) \times s_W^2}{\chi_{\alpha, N-S}^2} \quad .$$

Aquí,  $t$  y  $\chi^2$  son una función de distribución inversa acumulada evaluada al nivel de probabilidad de  $\alpha = 0,95$  y con N-S grados de libertad. SE es el error estándar de la diferencia entre las medias (Tothfalusi *et al.*, 2009).

El método de Howe (1974) es luego aplicado en orden para obtener el IC de una suma de variables aleatorias del IC individual. Las longitudes de los cuadrados del IC individual son:

$$L_m = (C_m - E_m)^2$$

y

$$L_s = (C_s - E_s)^2 \quad .$$

El IC de la suma es:

$$C_l = E_m - E_s + (L_m + L_s)^{1/2} \quad .$$

El IC del criterio reorganizado de SABE (ecuación C.1) es evaluado a un nivel de 95 %. SABE es rechazada si el límite de confianza superior al 95 % calculado es positivo, y no se rechaza en el otro caso. El algoritmo descrito es una aproximación numérica. La aproximación puede no ser buena si los grados de libertad son menores a 12 (Tothfalusi *et al.*, 2009).



## C.2. Efectos asociados al diseño cruzado

Considere el diseño cruzado descrito en la sección 2.6. En esa sección, se presenta el diseño cruzado  $2 \times 2$  utilizado en los estudios de bioequivalencia, donde los voluntarios son aleatoriamente asignados a dos secuencias (R: referencia, T: prueba) y observados en dos periodos (I y II). El cuadro C.1 resume este diseño.

Secuencia	Periodo	
	I	II
1 (RT)	Formulación de referencia	Formulación de prueba
2 (TR)	Formulación de prueba	Formulación de referencia

Cuadro C.1: Asignación de las formulaciones en un diseño cruzado  $2 \times 2$  para el  $i$ -ésimo voluntario.

Cada voluntario es aleatoriamente asignado a la secuencia 1 (RT) o a la secuencia 2 (TR). Los voluntarios asignados a la secuencia 1 reciben la formulación de referencia (R) en el primer periodo y la formulación de prueba (T) en el segundo periodo. Análogamente, los voluntarios asignados a la secuencia 2 reciben la formulación de prueba (T) en el primer periodo, y la formulación de referencia en el segundo periodo. El tiempo existente entre ambos periodos debe considerar una duración suficiente que sea capaz de eliminar los residuos provenientes de la formulación administrada en el primer periodo, denominado “tiempo de depuración” (o *washout*) (Chow y Liu, 2009).

### C.2.1. Efecto de arrastre (o *carryover*)

Para la determinación del efecto de arrastre, se considerará lo siguiente:

$$U_{ik} = Y_{i1k} + Y_{i2k} \quad , \quad i = 1, 2, \dots, n_k \quad ; \quad k = 1, 2$$

donde,

- $U_{ik}$  corresponde a la variable de respuesta en el diseño
- $Y_{i1k}$  corresponde a la variable de respuesta del  $i$ -ésimo voluntario en la  $k$ -ésima secuencia en el periodo 1
- $Y_{i2k}$  corresponde a la variable de respuesta del  $i$ -ésimo voluntario en la  $k$ -ésima secuencia en el periodo 2.

La esperanza y la varianza de  $U_{ik}$  están dadas, respectivamente, por:

$$E(U_{ik}) = \begin{cases} 2\mu + C_R & \text{para los voluntarios en la secuencia 1} \\ 2\mu + C_T & \text{para los voluntarios en la secuencia 2,} \end{cases}$$

y

$$\sigma_\mu^2 = V(U_{ik}) = 2(2\sigma_s^2 + \sigma_e^2) \text{ para todos los voluntarios,}$$

donde,

- $C_R$  corresponde al efecto de arrastre de la formulación de referencia administrada en el primer periodo en la secuencia 1
- $C_T$  corresponde al efecto de arrastre de la formulación de prueba administrada en el primer periodo en la secuencia 2.

Denótese por  $C = C_T - C_R$ ; siendo  $C$  el efecto de arrastre.

La presencia del efecto de arrastre  $C$ , se contrasta en las siguientes hipótesis:

$$H_0 : C = 0 \quad \text{o} \quad (C_R = C_T)$$

v/s

$$H_a : C \neq 0 \quad \text{o} \quad (C_R \neq C_T) \quad .$$

El rechazo de la hipótesis nula indica la presencia de un efecto de arrastre entre las formulaciones.

Se considera la siguiente media muestral

$$\bar{U}_{.k} = \frac{1}{n_k} \sum_{i=1}^{n_k} U_{ik} \quad , \quad k = 1, 2$$

donde  $\bar{U}_{.1}$  y  $\bar{U}_{.2}$  son las medias muestrales de dos muestras aleatorias independientes de una población normal con misma varianza.

Así,  $C$  puede ser estimado por la diferencia entre las medias muestrales de cada secuencia. Esto es,

$$\begin{aligned} \hat{C} &= \bar{U}_{.2} - \bar{U}_{.1} \\ &= (\bar{Y}_{.12} + \bar{Y}_{.22}) - (\bar{Y}_{.11} + \bar{Y}_{.21}) \end{aligned}$$

donde  $\hat{C}$  está distribuido normalmente con media  $C$  y varianza  $V(\hat{C})$ , la cuál está dada por:

$$V(\hat{C}) = \sigma_\mu^2 \left( \frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right) \quad .$$

La varianza  $V(\hat{C})$  puede ser estimada reemplazando  $\sigma_\mu^2$  por  $\hat{\sigma}_\mu^2$ , así

$$\hat{V}(\hat{C}) = \hat{\sigma}_\mu^2 \left( \frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right) \quad .$$

Note que  $\hat{C}$  es el estimador insesgado de la varianza mínima (EIVM) para  $C$  y,  $\hat{\sigma}_\mu^2$  es un estimador insesgado de  $\sigma_\mu^2$ . Así se obtiene

$$T_c = \frac{\hat{C}}{\hat{\sigma}_u \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}} \quad .$$

Como resultado, se rechaza la hipótesis nula si

$$|T_c| > t(\alpha/2, n_1 + n_2 - 2) \quad ,$$

para que se pueda obtener finalmente el intervalo de confianza al  $100(1-\alpha)\%$  como sigue:

$$\hat{C} \pm t(\alpha/2, n_1 + n_2 - 2) \hat{\sigma}_u \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}} \quad .$$

(Chow y Liu, 2009).

### C.2.2. Efecto de tratamientos

Para determinar el efecto de tratamiento se requiere comenzar con la diferencia de periodos en cada secuencia; las cuales, se definen como sigue:

$$d_{ik} = \frac{1}{2}(Y_{i2k} - Y_{i1k}) \quad , \quad i = 1, 2, \dots, n_k \quad y \quad k = 1, 2 \quad .$$

La esperanza y la varianza de la diferencia de periodos están dadas, respectivamente, por

$$E(d_{ik}) = \begin{cases} \frac{1}{2}[(P_2 - P_1) + (F_T - F_R) + C_R] & \text{para los voluntarios en la secuencia 1} \\ \frac{1}{2}[(P_2 - P_1) + (F_R - F_T) + C_T] & \text{para los voluntarios en la secuencia 2} \end{cases}$$

y

$$V(d_{ik}) = \sigma_d^2 = \sigma_e^2/2 \quad ,$$

donde

- $P_1$  corresponde al efecto periodo en la secuencia 1
- $P_2$  corresponde al efecto periodo en la secuencia 2
- $F_R$  corresponde al efecto tratamiento si la formulación fue administrada en el primer periodo de la primera secuencia, o en el segundo periodo de la segunda secuencia
- $F_T$  corresponde al efecto tratamiento si la formulación fue administrada en el segundo periodo de la primera secuencia, o en el primer periodo de la segunda secuencia.

Se denota el efecto periodo y el efecto tratamiento por  $P = P_2 - P_1$  y  $F = F_T - F_R$ , respectivamente.

Se considera la siguiente media muestral para la diferencia de periodos en cada secuencia. Esto es,

$$\bar{d}_{.k} = \frac{1}{n_k} \sum_{i=1}^{n_k} d_{ik}, \quad k = 1, 2 \quad .$$

Debido a que  $d_{i1}$ ,  $i = 1, \dots, n_1$  y  $d_{i2}$ ,  $i = 1, \dots, n_2$  son dos muestras independientes de una población normal con varianzas iguales, el estadístico de prueba se obtiene de la siguiente forma:

$$T_d = \frac{\hat{F}}{\hat{\sigma}_d \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$$

donde  $\hat{\sigma}_d$  es un estimador insesgado de  $\sigma_d$ , es decir:

$$\hat{\sigma}_d = \frac{1}{n_1 + n_2 - 2} \sum_{k=1}^2 \sum_{i=1}^{n_k} (d_{ik} - \bar{d}.k)^2 \quad .$$

Así el intervalo de confianza al  $100(1 - \alpha)\%$  para  $F$  es obtenido por

$$\hat{F} \pm t(\alpha/2, n_1 + n_2 - 2) \hat{\sigma}_d \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}} \quad .$$

La presencia del efecto tratamiento se contrasta con las siguientes hipótesis:

$$H_0 : F_R = F_T$$

$$v/s$$

$$H_a : F_R \neq F_T \quad .$$

Se rechaza  $H_0$  si

$$|T_d| > t(\alpha/2, n_1 + n_2 - 2) \quad .$$

(Chow Y Liu, 2009).

### C.2.3. Efecto de periodo

Para determinar el efecto del periodo, se definen las diferencias del diseño como siguen:

$$O_{ik} = \begin{cases} d_{ik} & \text{para los voluntarios en la secuencia 1} \\ -d_{ik} & \text{para los voluntarios en la secuencia 2.} \end{cases}$$

La esperanza y varianza de la diferencia del diseño están dadas, respectivamente, por

$$E(O_{ik}) = \begin{cases} \frac{1}{2}[(P_2 - P_1) + (F_T - F_R) + C_R] & \text{para los voluntarios en la secuencia 1} \\ \frac{1}{2}[(P_1 - P_2) + (F_T - F_R) - C_T] & \text{para los voluntarios en la secuencia 2} \end{cases}$$

y

$$V(O_{ik}) = \sigma_d^2 = \sigma_e^2/2 \quad .$$

Se considera a  $\bar{O}_{.1}$  y  $\bar{O}_{.2}$  como las medias muestrales de las diferencias del diseño en las secuencias 1 y 2. Entonces,

$$\bar{O}_{ik} = \begin{cases} \bar{d}_{.1} & \text{para } k = 1 \\ -\bar{d}_{.2} & \text{para } k = 2 \end{cases} \quad .$$

Se obtiene un estimador insesgado para el efecto periodo  $P$  como se muestra a continuación:

$$\begin{aligned} \hat{P} &= \bar{O}_{.1} - \bar{O}_{.2} \\ &= \frac{1}{2}[(\bar{Y}_{.21} - \bar{Y}_{.11}) - (\bar{Y}_{.12} - \bar{Y}_{.22})] \quad . \end{aligned}$$

Y así el intervalo de confianza para  $100(1 - \alpha)\%$  está dado por

$$\hat{P} \pm t(\alpha/2, n_1 + n_2 - 2) \hat{\sigma}_d \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}} \quad .$$

Se rechaza la hipótesis nula de ausencia de efecto periodo, esto es:

$$H_0 : P_1 = P_2$$

v/s

$$H_a : P_1 \neq P_2$$

si

$$|T_0| > t(\alpha/2, n_1 + n_2 - 2) \quad ,$$

donde

$$|T_0| = \frac{\hat{P}}{\hat{\sigma}_d \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}} \quad .$$

(Chow y Liu, 2009).

La inferencia estadística para el efecto de arrastre, el efecto de tratamiento y el efecto de periodo para el diseño cruzado  $2 \times 2$  se resumen en el cuadro C.2.

Efecto	EIVM	IC del 100(1 - $\alpha$ ) %	Estadístico de prueba
Carryover	$\hat{C} = \bar{U}_{.2} - \bar{U}_{.1}$ $= (\bar{Y}_{.11} + \bar{Y}_{.21}) - (\bar{Y}_{.12} + \bar{Y}_{.22})$	$\hat{C} \pm t(\alpha/2, n_1 + n_2 - 2) \hat{\sigma}_u \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}$	$T_c = \frac{\hat{C}}{\hat{\sigma}_u \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$
Tratamiento	$\hat{F} = \bar{d}_{.1} - \bar{d}_{.2}$ $= \frac{1}{2} [(\bar{Y}_{.21} - \bar{Y}_{.11}) - (\bar{Y}_{.22} - \bar{Y}_{.12})]$	$\hat{F} \pm t(\alpha/2, n_1 + n_2 - 2) \hat{\sigma}_d \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}$	$T_d = \frac{\hat{F}}{\hat{\sigma}_d \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$
Periodo	$\hat{P} = \bar{O}_{.1} - \bar{O}_{.2}$ $= \frac{1}{2} [(\bar{Y}_{.21} - \bar{Y}_{.11}) - (\bar{Y}_{.12} - \bar{Y}_{.22})]$	$\hat{P} \pm t(\alpha/2, n_1 + n_2 - 2) \hat{\sigma}_d \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}$	$T_o = \frac{\hat{P}}{\hat{\sigma}_d \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$

Cuadro C.2: Resumen de las inferencias estadísticas para los efectos fijos en un diseño cruzado  $2 \times 2$ .

Nota: EIVM = Estimador insesgado de varianza mínima.

Adaptado de Chow y Liu, 2009.



# Bibliografía

- [1] Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica, República de Argentina (ANMAT). (2013). *La ANMAT y la bioequivalencia*. Recuperado en junio de 2013, de [http://www.anmat.gov.ar/webanmat/Documentos\\_Informativos/Consultor\\_n%C2%BA375\\_1%C2%BA\\_nov.pdf](http://www.anmat.gov.ar/webanmat/Documentos_Informativos/Consultor_n%C2%BA375_1%C2%BA_nov.pdf)
- [2] Agencia Nacional del Medicamento (ANAMED). (2005). *Norma que define criterios para establecer equivalencia terapéutica a productos farmacéuticos en Chile*. Recuperado en junio de 2013, de [http://www.ispch.cl/sites/default/files/u7/NORMA%20EQT-RESOL\\_EX\\_727\\_05.pdf](http://www.ispch.cl/sites/default/files/u7/NORMA%20EQT-RESOL_EX_727_05.pdf)
- [3] Chen, M., Davit, B., Lionberger, R., Wahba, Z., Ahn, H., Yu, L. (2011). Using partial area for evaluation of bioavailability. *Pharm Res*, 28, 1939-1947.
- [4] Chow, S. & Liu, J. (2009). *Design and analysis of bioavailability and bioequivalence studies* (3th ed.). North Carolina: Chapman & Hall/CRC.
- [5] Chung, J., Lee, Y., Jang, S., Lim, L., Park, M., Kim, K. (2010). CYP3A5\*3 Genotype associated with intrasubject pharmacokinetic variation toward tacrolimus in bioequivalence study and bioequivalence. *Ther Drug Monit*, 32, 67-72.
- [6] Colegio de químico farmacéuticos y bioquímicos de Chile AG. (2014). *Declaración pública*. Recuperado en febrero de 2014, de [http://www.colegiovfarmaceutico.cl/images/2014/Documentos\\_2014/Declaracion\\_final\\_022014.pdf](http://www.colegiovfarmaceutico.cl/images/2014/Documentos_2014/Declaracion_final_022014.pdf)
- [7] Davit, B., Chen, M., Conner, D., Haidar, S., Kim, S., Lee, S., Lionberger, R., Makhlof, F., Nwakama, P., Patel, D., Schuirmann, D., Yu, L. (2012). Implementation of a reference-scaled average bioequivalence approach for highly variable generic drug products by the US Food and Drug Administration. *The AAPS Journal*, 14, p.4

- [8] Davit, B., Conner, D., Fabian-Fritsch, B., Haidar, S., Jiang, X., Patel, D., Seo, P., Suh, K., Thompson, C., Yu, L. (2008). Highly variable drugs: Observations from bioequivalence data submitted to the FDA for new generic drug applications. *The AAPS Journal*, 10, p.1
- [9] Dentali, F., Donadini, M., Clark, N., Crowther, M., Garcia, D., Hylek, E., Witt, D., Ageno, W. (2011). Brand name versus generic warfarin: A systematic review of the literature. *Pharmacotherapy*, 31(4), 386-393.
- [10] Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Farmacia, Universidad de Valparaíso. (2014). *Declaración pública sobre la Ley Nacional de Fármacos e insumos médicos*. Recuperado en febrero de 2014, de [http://www.colegiofarmaceutico.cl/images/2013/Archivos/Declaracion\\_Publica\\_CSF\\_19072013.pdf](http://www.colegiofarmaceutico.cl/images/2013/Archivos/Declaracion_Publica_CSF_19072013.pdf)
- [11] Food and Drug Administration (FDA). (2001). *Statistical approach to establishing bioequivalence. Guidance for industry*. Recuperado en mayo de 2013, de <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/Guidances/ucm070244.pdf>
- [12] Food and Drug Administration (FDA). (2003). *Bioavailability and bioequivalence studies for orally administered drug products - general considerations. Guidance for industry*. Recuperado en mayo de 2013, de <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/.../Guidances/ucm070124.pdf>
- [13] Formentini, E. A. (2013). *Biodisponibilidad y bioequivalencia*. Recuperado en mayo de 2013, de <http://www.fcv.unl.edu.ar/archivos/posgrado/especializaciones/espsaludanimal/informacion/material/FarmacologiaGeneralAplicada/LibrodefarmacologiaBAandBE.doc>
- [14] García, A. (2013). *Bioequivalencia*. Recuperado en mayo de 2013, de <http://salud.bioetica.org/genericos1.htm>
- [15] García, A. & Gordon, J. (2012). Bioequivalence requirements in the European Union: Critical Discussion. *The AAPS Journal*, 14, p.4
- [16] Garcia, A., Hernández, C., Avendaño, C. (2010). Regulación de los medicamentos genéricos: evidencias y mitos. *Inf Ter Sist Nac Salud*, 34, 71-82.
- [17] Hauschke, D., Steinijs, V., Pigeot, I. (2007). *Bioequivalence studies in drug development, methods and applications*. Chichester: John Wiley & Sons, Ltd

- [18] Howe, W. (1974). Approximate confidence limits on the mean of  $X + Y$  where  $X$  and  $Y$  are two tabled independent random variables. *J Am Stat Assoc.*, 69, 789-94.
- [19] Instituto de Salud Pública (ISP). (2013). *Subdepartamento de Registro: Definición de Medicamentos*. Recuperado en febrero de 2013, de [http://www.ispch.cl/anamed/subdeptoregistro/definicion\\_medicamentos](http://www.ispch.cl/anamed/subdeptoregistro/definicion_medicamentos)
- [20] Instituto de Salud Pública (ISP). (2014). *Departamento ANAMED: Bioequivalencia*. Recuperado en febrero de 2014, de <http://www.ispch.cl/anamed/bioequivalencia>
- [21] Karalis, V., Macheras, P., Van Peer, A., Shah, V. (2008). Bioavailability and bioequivalence: Focus on physiological factors and variability. *Pharmaceutical Research*, 25, p.8
- [22] Karalis, V., Symillides, M., Macheras, P. (2011). Novel methods to assess bioequivalence. Expert opinion. *Drug Metab. Toxicol.*, 7(1), 79-88.
- [23] Karalis, V., Symillides, M., Macheras, P. (2012). Bioequivalence of highly variable drugs: A comparison of the newly proposed regulatory approaches by FDA and EMA. *Pharm Res*, 29, 1066-1077.
- [24] Laosa O., Guerra, P., López J., Mosquera, B., Frías J. (2009). Estudios de bioequivalencia: La necesidad de establecer la fiabilidad de los medicamentos genéricos. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*, 26(4), 553-62.
- [25] Midha, K., Rawson, M., Hubbard, J. (2005). The bioequivalence of highly variable drugs and drug products. *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 43(10), 485-498.
- [26] Ministerio de Salud (MINSAL). (2014). *El uso racional de medicamentos*. Recuperado en febrero de 2014, de [http://web.minsal.cl/uso\\_medicamentos](http://web.minsal.cl/uso_medicamentos)
- [27] Morales, J. (2014). *Bioequivalencia: Un gran avance para el mercado*. Recuperado en febrero de 2014, de <http://www.politicafarmaceuticas.cl/2013/05/28/juan-pablo-morales-en-el-mercurio-columna-sobre-bioequivalencia/>
- [28] Nair, A., Anand, O., Chun, N., Conner, D., Mehta, M., Nhu, D., Polli, L., Yu, L., Davit, B. (2012). Statistics on BCS classification of generic drug products approved between 2000 and 2011 in the USA. *The AAPS Journal*, 14, p.4.
- [29] Patterson, S. & Jones, B. (2006). *Bioequivalence and statistic in clinical pharmacology*. New York: Chapman & Hall/CRC.

- [30] Patterson, S. & Jones, B. (2012). Viewpoint: Observations on scaled average bioequivalence. *Pharmaceut. Statist.*, 11, 1-7.
- [31] Pérez, C. (1990). *Estadística aplicada en los estudios de bioequivalencia*. Recuperado en junio de 2013, de <http://amestad.mx/pdf/conferencia-2010-11.pdf>
- [32] Ramirez, E., Guerra, P., Laosa, O., Duque, B., Tabares, B., Lei, S., Carcas, A., Frias, J. (2008). The importance of sample size, log-mean ratios, and intrasubject variability in the acceptance criteria of 108 bioequivalence studies. *Eur J Clin Pharmacol.*, 64, 783-793.
- [33] Sánchez, M. (2009). *Análisis de procedimientos para la evaluación de medicamentos: Bioequivalencia y Farmacogenética*. (Tesis doctoral). Universitat de Barcelona, España.
- [34] Sánchez, M., Gómez, C., Carrasco, J., Ocaña, J., Plessing, C., Godoy, C., Reinbach, R., Godoy, R. (2008). Evaluating average bioequivalence using methods for high variability drugs: A case study. *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 46(10), 527-537.
- [35] Sánchez, M., Ocaña, J., Carrasco, J. (2011). The effect of variability and carryover on average bioequivalence assessment: A simulation study. *Pharmaceut. Statist.*, 10, 135-142.
- [36] Schuirmann, D. (1987). A comparison of the two-one-sided test procedure and the power approach of assessing the equivalence of average bioavailability. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics*, 15, p.6
- [37] Senn, S. (2002). *Crossover trials in clinical research* (2nd ed.). Chichester: John Wiley & Sons, LTD.
- [38] Senn, S. (2006). Cross-over trials in statistics in medicine: The first 25 years. *Statist. Med.*, 25, 3430-3442.
- [39] Senn, S. (2007) *Statistical issues in drug development* (2nd ed.). Chichester: John Wiley & Sons, LTD.
- [40] Strauch, S., Jantratid, E., Dressman, J.B., Junginger, H.E., Kopp, S., Midha, K.K., Shah, V.P., Stavchansky, S., Barends, D.M. (2011). Bio-waiver monographs for immediate release solid oral dosage forms: Lami-vudine. *Journal of Pharmaceutical sciences*, 100, p.6

- [41] The European Agency for the evaluation of medicinal products (EMA). (2001). *Committee for proprietary medicinal products (CPMP). Note for guidance on the investigation of bioavailability and bioequivalence*. Recuperado en mayo de 2013, de [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2009/09/WC500003008.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003008.pdf)
- [42] The European Agency for the evaluation of medicinal products (EMA). (2010). *Committee for medicinal products for human use (CHMP). Guideline on the investigation of bioequivalence*. Recuperado en mayo de 2013, de [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2010/01/WC500070039.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2010/01/WC500070039.pdf)
- [43] Tothfalusi, L. & Endrenyi, L. (2003). Limits for the scaled average bioequivalence of highly variable drugs and drug products. *Pharmaceutical Research*, 20, p.3
- [44] Tothfalusi, L. & Endrenyi, L. (2012). Sample sizes for designing bioequivalence studies for highly variable drugs. *J Pharm Pharmaceut Sci*, 15(1) 73-84.
- [45] Tothfalusi, L., Endrenyi, L., Garcia Arieta, A. (2009). Evaluation of bioequivalence for highly variable drugs with scaled average bioequivalence. *Clin Pharmacokinet*, 48(11), 725-743.
- [46] Tothfalusi, L., Endrenyi, L., Midha, K., Rawson, M., Hubbard, J. (2001). Evaluation of the bioequivalence of highly-variable drugs and drug products. *Pharmaceutical Research*, 18, p.6
- [47] Verbeeck, R. & Musuamba, F. (2012). The Revised 2010 EMA guideline for the investigation of bioequivalence for immediate release oral formulations with systemic action. *J Pharm Pharmaceut Sci*, 15(3), 376-388.
- [48] World Health Organization (WHO). (2003). *Effective medicines regulation: ensuring safety, efficacy and quality*. Recuperado en febrero de 2014, de <http://apps.who.int/medicinedocs/pdf/s4921e/s4921e.pdf>
- [49] Zanen, P. (2013). *Bioequivalence and generic medicines*. Recuperado en mayo de 2013, de <http://webmail.egagenerics.com/doc/zanen-biogenerics.pdf>
- [50] Zapater, P., & J.F. Horga. (1999). Bioequivalencia y genéricos. Los estudios de bioequivalencia. I. Una aproximación a sus bases teóricas, diseño y realización. *Revista de Neurología*, 29(12), 1235-1246.