

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE MATEMÁTICA, ESTATÍSTICA E COMPUTAÇÃO
CIENTÍFICA

Intervalo de Confiança para Avaliação de Bioequivalência
Individual Utilizando a Medida de Kullback-Leibler

Paula Cristina S.S. Moura

Dissertação de Mestrado orientada pela

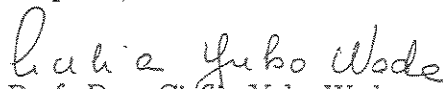
Profa. Dra. Cicília Yuko Wada

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

Intervalo de Confiança para Avaliação de Bioequivalência Individual Utilizando a Medida de Kullback-Leibler

Este exemplar corresponde à redação final da dissertação devidamente corrigida e defendida por Paula Cristina S.S. Moura e aprovada pela comissão julgadora.

Campinas, 18 de Maio de 2004.


Prof. Dra. Cicília Yuko Wada

Banca Examinadora:

1. Profa. Dra. Cicília Yuko Wada-IMECC/UNICAMP
2. Profa. Dra. Chang Chiann-IME/USP
3. Prof. Dr. Reinaldo Charnet-IMECC/UNICAMP

Dissertação apresentada ao Instituto de Matemática, Estatística e Computação Científica, UNICAMP, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Estatística.

UNIDADE	<u>72</u>
Nº CHAMADA	<u>7/UNICAMP</u>
	<u>M865i</u>
V	EX
TOMBO BCI	<u>59777</u>
PROC.	<u>6.117-09</u>
C	☐
D	☒
PREÇO	<u>11,00</u>
DATA	
Nº CPD	

Bib Id 322132

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO IMECC DA UNICAMP

Moura, Paula Cristina Soprano de Sousa

M865i Intervalo de confiança para avaliação de bioequivalência individual utilizando a medida de Kullback-Leibler / Paula Cristina Soprano de Sousa
Moura – Campinas, [S.P. :s.n.], 2004.

Orientadora : Cicília Yuko Wada

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Matemática, Estatística e Computação Científica.

1. Bioequivalência. 2. Divergência de Kullback-Leibler. 3. Planejamento de experimentos (Estatística). I. Wada, Cicília Yuko. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Matemática, Estatística e Computação Científica. III. Título.

Dissertação de Mestrado defendida em 23 de março de 2004 e aprovada pela Banca
Examinadora composta pelos Profs. Drs.

Cicília Yuko Wada

Prof (a). Dr (a). CÍCÍLIA YUKO WADA

Chang Chiann

Prof (a). Dr (a). CHANG CHIANN

Reinaldo Charnet

Prof (a). Dr (a). REINALDO CHARNET

Dedicatória

Aos meus pais Aparecida e João, e ao meu esposo Marcos.

Agradecimentos

Agradeço aos meus pais pelo incentivo e ensinamentos, que foram essenciais para minha formação.

À Profa. Dra. Cicília Yuko Wada pela orientação, incentivo e por disponibilizar recursos para que pudesse efetuar as simulações.

Ao meu irmão Rodrigo pela amizade e os momentos de descontração.

Ao meu marido Marcos, pelo amor, apoio, amizade, compreensão e sugestões para o texto, e ainda por colaborar com a implementação em Java de alguns algoritmos.

Aos colegas, Rossana, Rose e Rogério pelas dicas de Latex.

Aos colegas de Mestrado, Izabela, Fernanda, Ricardo, Rodrigo, Nelson, Tatiana e Helder pela boa convivência e amizade.

Ao meu amigo Cardoso, pelo apoio e amizade.

A minha sogra Maria Rita, e meus cunhados Adriano e Viviani pelo carinho e incentivo.

Aos funcionários da BIMECC e da Secretária de Pós-Graduação pelo bom atendimento.

A UNICAMP por prover recursos que foram essenciais para o desenvolvimento deste trabalho.

A CAPES pelo apoio financeiro.

Resumo e Abstract

Resumo

Os estudos de bioequivalência são conduzidos para mostrar que dois medicamentos, denominados medicamentos referência R e teste T, possuem biodisponibilidade similares. No Brasil, a introdução do medicamento genérico iniciou em 1999 e utiliza o método de bioequivalência média (BEM) para analisar se o princípio ativo do medicamento T é liberado na mesma velocidade e quantidade que o do medicamento R. Mas, este método não é suficiente para garantir que um individual apresente respostas similares quando submetido as duas formulações, i.e., não garante a intercambiabilidade entre os medicamentos T e R segundo definição de Chow e Liu (1995). Métodos alternativos como bioequivalência individual (BEI) e bioequivalência populacional (BEP) são propostos como alternativa para garantir a intercambiabilidade entre os medicamentos. Nos últimos anos tem sido propostos vários estudos para verificar bioequivalência individual entre as formulações de um mesmo fármaco.

O estudo de Dragalin V. et al. (2003) propõe a divergência de Kullback-Leibler como medida de discrepância entre as distribuições das duas formulações para verificar BEI. Este estudo apresenta várias vantagens como a propriedade hierárquica de $BEI \longrightarrow BEP \longrightarrow BEM$, satisfaz as propriedades de distância métrica, é invariante para transformações monótonas nos dados, pode ser generalizado para o caso multivariado e pode ser aplicado para qualquer distribuição pertencente a classe exponencial. É avaliado através da construção do intervalo de confiança bootstrap-percentil.

Hyslop T. et al. (2000) sugeriu um intervalo de confiança alternativo para o critério do FDA (Food and Drug Administration) para verificar BEI, que utiliza intervalo de confiança

bootstrap-percentil. Para calcular o intervalo de confiança, utilizou a aproximação I de Howe (1974) baseada na expansão de Cornish-Fisher.

O objetivo desta dissertação é apresentar um intervalo de confiança alternativo para a divergência de Kullback-Leibler utilizando a aproximação de Howe, como sugerido por Hyslop (2000) para o critério do FDA, e sua comparação com outros métodos existentes.

Foram realizados estudos de simulação de poder do teste para a proposta alternativa do método de Kullback-Leibler, e efetuamos sua comparação com outros métodos de BEI que foram propostos nos últimos anos. Resultados indicam que o método alternativo para divergência de Kullback-Leibler é sensível para detectar pequenas mudanças na resposta média entre as formulações e para detectar presença da interação entre formulação e indivíduo.

O método proposto tem como vantagem fácil programação e não necessita de recursos computacionais intensivos como o método de bootstrap-percentil.

Abstract

Bioequivalence trials are conducted to show that two formulations, a reference drug R and a test T, produces similar bioavailability. In Brazil, the introduction of the generic drug started in 1999 and the current analysis of the pharmacokinetics measures for rate and extent of the absorption is the average bioequivalence (ABE) which is not sufficient to guarantee that an individual present similar responses when submitted to the two formulations. Alternatives methods as individual bioequivalence (IBE) and populational bioequivalence (PBE) were proposed in order to assure the interchangeability, classified as prescribability and switchability, between the reference and test formulations. Several studies for the assessment of individual bioequivalence between two formulations of a drug have been proposed recently.

The study of Dragalin V. et al. (2003) proposed the Kullback-Leibler divergence as the measure of the discrepancy between the distributions of the two formulations for assessing the individual bioequivalence. This study seems to have advantages such as the hierarchical property of $BEI \rightarrow BEP \rightarrow BEM$, satisfies the property of a true metric distance, is invariant to monotonic transformations and can be generalized to multivariate setting and finally, can

be applied to a wide range of distributions of the response. The assessment of individual bioequivalence is made using a simulation study.

Hyslop T. et al.(2000) proposed an alternative confidence interval procedure to assess IBE by the FDA criteria, which uses the bootstrap-percentil method. To calculate the confidence interval, used the Howes approximation I method (1974) based on Cornish - Fisher expansion. Since the limits of the confidence interval are based on the exact distributions of its components, it can be easily calculated by available software.

The advantages presented in Kullback-Leibler divergence and the closed form of the upper limits of the confidence interval for the FDA criteria motivated the present study.

The present study focus on the Cornish-Fisher expansion technique, as used by Hyslop(2000), for development of the procedure for the assessment of individual bioequivalence using Kullback-Leibler divergence as the measure of the discrepancy between the two formulations.

Numerical studies with three data sets from 2 x 4 crossover design and simulation studies for the power of the proposed alternative method for Kullback-Leibler divergence are presented. Results of the Kullback-Leibler-confidence interval proposed indicate sensitive to changes in mean response between formulations and to the detection of subject-by-formulation interaction.

The advantages of the proposed method are easy programming and no requirement of computational intensive method as require the bootstrap percentile method.

Sumário

Resumo e Abstract	vi
Lista de Figuras	xiii
Lista de Tabelas	xv
Introdução	xvii
1 Revisão de Bioequivalência Média	1
1.1 Motivação e Objetivo do Trabalho	1
1.2 Histórico	1
1.3 Conceitos de Bioequivalência/Biodisponibilidade	3
1.4 Regras de Decisão	7
1.5 Medidas Farmacocinéticas	8
1.6 Administração/Amostra	12
1.7 Planejamento de Experimentos	13
1.7.1 Aleatorização	13
1.7.2 Transformação de Variáveis	14
1.7.3 Planejamento Completamente Aleatorizado	14
1.7.4 Planejamento Crossover	15
1.8 Bioequivalência Média (BEM)	33
1.8.1 Determinação de BEM	33
1.8.2 Intervalo de Bioequivalência	34

1.8.3	Intervalo de Confiança	35
1.8.4	Teste de Hipóteses	38
1.8.5	Poder do Teste e Tamanho de Amostra	42
1.9	Desvantagens da BEM	45
2	Revisão de Métodos Alternativos	49
2.1	Introdução	49
2.2	Planejamento, Modelo e Estimação	53
2.3	Métodos Baseado em Momento	58
2.3.1	Ekbohm e Melander (1989)	59
2.3.2	Sheiner (1992)	61
2.3.3	Schall e Luus (1993)	62
2.3.4	Holder e Hsuan (1993)	64
2.3.5	FDA (1997)	65
2.3.6	Critério Desagregado (1998)	67
2.3.7	Relação entre os Critérios	69
2.3.8	Limites de Bioequivalência	69
2.4	Método Baseado em Probabilidade	70
2.4.1	Anderson e Hauck (1990)	71
2.4.2	Esinhart e Chinchilli (1994)	73
2.4.3	Schall (1995)	75
2.4.4	Liu e Chow (1997)	77
2.4.5	Poder do Teste e Tamanho de Amostra	82
3	Estudo de Novas Propostas Alternativas	83
3.1	Introdução	83
3.2	Brown e Iyer (1997)	85
3.2.1	Critério:	87
3.2.2	Estimação:	87
3.2.3	Algoritmo	88

3.3	Hyslop et al.(2000)	90
3.3.1	Critério:	91
3.3.2	Estimação:	91
3.3.3	Intervalo de Confiança	97
3.3.4	Algoritmo	100
3.4	McNally et al.(2003)	103
3.4.1	Critério:	103
3.4.2	Estimação:	105
3.4.3	Algoritmo	106
3.5	Dragalin et al.(2003)	109
3.5.1	Critério:	109
3.5.2	Estimação:	111
3.5.3	Propriedades da DKL:	111
3.5.4	Algoritmo	114
3.6	Ilustração com Dados Reais	115
3.6.1	Descrição dos Dados	115
3.6.2	Comparação dos Métodos	120
4	Um Intervalo de Confiança para DKL e Poder do Teste	123
4.1	Introdução	123
4.2	Um IC para DKL	124
4.2.1	Limite Superior do IC para DKL (DKL-1)	125
4.2.2	Limite Superior do IC para DKL (DKL-2)	126
4.2.3	Algoritmo para verificar BEI para DKL-2	129
4.2.4	Algoritmo para Poder do Teste para DKL-1	129
4.2.5	Algoritmo para Poder do Teste para DKL-2	129
4.3	Tamanho e Poder do Teste	130
4.3.1	Comparação com outros Métodos de BEI	133
4.4	Poder dos Dados Reais	142

4.5 Implementação dos Métodos	143
Conclusão	145
A Medidas Farmacocinéticas - Meia Vida	149
B Teste t –Student para Efeitos do Modelo <i>Crossover</i> 2x2	151
C Teste t – Student para Efeitos do Modelo <i>Crossover</i> 2x4	159
D Programas em SAS	161
D.1 DKL-2-BEI	161
D.2 Hyslop-BEI	164
D.3 DKL-2-Poder do Teste	167
D.4 Hyslop-Poder do Teste	169
Bibliografia	171

Lista de Figuras

1.1	Etapas para Comercialização do Medicamento	6
1.2	Exemplo da Área Sob a Curva	9
2.1	Exemplo de Janela Terapêutica Ampla para distribuição da média da ASC para os medicamentos R (linha contínua) e T.	52
2.2	Exemplo de Janela Terapêutica Estreita para distribuição da média da ASC para os medicamentos R (linha contínua) e T.	52
3.1	Respostas de $\ln(AUC)$ dos indivíduos da sequência 1 (RRTT) para Dados Albert	117
3.3	Respostas de $\ln(AUC)$ dos indivíduos da sequência 1(RTTR) para Dados Pheny- toin	117
3.2	Respostas de $\ln(AUC)$ dos indivíduos da sequência 2 (TTRR) para Dados Albert	118
3.4	Respostas de $\ln(AUC)$ dos indivíduos da sequência 2(TRRT) para Dados Pheny- toin	118
3.5	Respostas de $\ln(AUC)$ dos indivíduos da sequência 1(RTTR) para Dados Dro- gal7a	119
3.6	Respostas de $\ln(AUC)$ dos indivíduos da sequência 2(TRRT) para Dados Dro- gal7a	119
4.1	Relação entre o limite superior de 95% e os componentes E_1 e E_2 com $n = 15$, $\sigma_{WT} = \sigma_{WR} = 0,30$, $\delta = 0,10$ e $\sigma_D = 0,01$	139
4.2	Relação entre o limite superior de 95% e os componentes E_3 e E_4 com $n = 15$, $\sigma_{WT} = \sigma_{WR} = 0,30$, $\delta = 0,10$ e $\sigma_D = 0,01$	140

4.3	Relação entre o limite superior de 95% e os componentes E_5 e E_6 com $n = 15$, $\sigma_{WT} = \sigma_{WR} = 0,30$, $\delta = 0,10$ e $\sigma_D = 0,01$	140
4.4	Relação entre o limite superior de 95% e os componentes E_D e E_I com $n = 15$, $\sigma_{WT} = \sigma_{WR} = 0,30$, $\delta = 0,10$ e $\sigma_D = 0,01$	141
4.5	Relação entre o limite superior de 95% e os componentes E_T e E_R com $n = 15$, $\sigma_{WT} = \sigma_{WR} = 0,30$, $\delta = 0,10$ e $\sigma_D = 0,01$	141

Lista de Tabelas

1.1	Panorama de Comercialização do Medicamento Genérico	2
1.2	Efeitos do Modelo I para <i>Crossover</i> 2 x 2	18
1.3	Efeitos do Modelo II para <i>Crossover</i> 2 x 2	19
1.4	Efeitos do Modelo I para <i>Crossover</i> 2x3	24
1.5	Efeitos do Modelo II para <i>Crossover</i> 2x3	24
1.6	Efeitos do Modelo I para <i>Crossover</i> 2x4	24
1.7	Efeitos do Modelo II para <i>Crossover</i> 2x4	25
1.8	Estimativas de Máxima Verossimilhança	32
1.9	ANOVA <i>Crossover</i> 2x2 com Modelo I	32
1.10	Métodos para Avaliar BEM	41
2.1	Classificação das Drogas	51
2.2	Valores Críticos para $MI4$	64
2.3	Tamanho de Amostra para <i>Crossover</i> 2x4 e <i>Crossover</i> 2x2	66
2.4	Número Mínimo de Indivíduos para Concluir BEI	72
2.5	Número de Indivíduos Necessário para Concluir BEI	74
2.6	Total de Indivíduos para Concluir BEI para Diferentes Planejamientos	80
2.7	Resumo dos Critérios Apresentados	81
3.1	Poder do teste para Diferentes Planejamientos	89
3.2	Estimativas para Cálculo de H_{η_1}	99
3.3	Estimativas para Cálculo de H_{η_2}	100

3.4	Estimativa para o Nível de Significância do Teste Baseado em 15.500 Simulações para cada Combinação dos Parâmetros	101
3.5	Estimativa para o Nível de Significância do Teste Baseado em 15.500 Simulações para cada Combinação dos Parâmetros	102
3.6	Poder do Teste para Métodos VPG e Hyslop	108
3.7	Estimativas de Máxima Verossimilhança	116
3.8	ANOVA <i>Crossover</i> 2x4 com Modelo I	116
3.9	Estimativas dos Parâmetros Utilizando EMVR	116
3.10	Comparação dos Métodos para Avaliar BEI para Dados-Albert	120
3.11	Comparação dos Métodos para Avaliar BEI para Dados-Droga17a	121
3.12	Comparação dos Métodos para Avaliar BEI para Dados-Phenytoin	121
4.1	Tamanho do Teste Estimado para Métodos de Hyslop e DKL-2	131
4.2	Tamanho do Teste Estimado para Métodos de Hyslop e DKL-2	132
4.3	Comparativo de Poder do Teste	136
4.4	Comparativo de Poder do Teste	137
4.5	Poder do Teste para Métodos de Hyslop e DKL-2 para Dados Reais	142
B.1	Inferências Estatísticas para Efeitos Fixos de <i>Crossover</i> 2 x 2	155
B.2	Análise de Variância para <i>Crossover</i> 2x2	157
C.1	Coeficientes dos Contrastes para Testar Efeitos para Modelo <i>Crossover</i> 2x4 . .	160
C.2	Inferências Estatísticas para Efeitos Fixos de <i>Crossover</i> 2 x 4	160

Introdução

A introdução do medicamento genérico no mercado brasileiro iniciou-se a partir de 1999 com a regulamentação da Lei dos Genéricos *n*º 9787 e teve como objetivo facilitar o acesso da população a medicamentos eficazes e seguros a um preço mais acessível.

Os medicamentos genéricos são produzidos com o mesmo princípio ativo de medicamentos com a patente vencida ou que perderam o direito de exclusividade de comercialização. Estes medicamentos são denominados medicamentos de marca ou referência.

Para que os medicamentos de marca chegassem às farmácias, foi necessário investimentos em média de 400 milhões de dólares em pesquisas e aproximadamente 10 anos passando por testes rigorosos para garantir segurança, eficácia e qualidade ao consumidor, de modo que o fabricante tem 20 anos de exclusividade na produção e comercialização deste medicamento. Expirado este prazo, a patente é quebrada e pode ser produzido por laboratórios genéricos, conforme Lei *n*º 9787 de 10/02/1999 e Resoluções *n*º 896, 898 e 135 de 29/05/2003. Para ser denominado genérico, o medicamento precisa passar apenas por testes de biodisponibilidade e bioequivalência e seus resultados são comparados ao medicamento referência, garantindo assim, a intercambiabilidade entre os medicamentos. O teste de biodisponibilidade verifica como o medicamento está sendo metabolizado pelo corpo, enquanto que o teste de bioequivalência verifica se a velocidade e quantidade de absorção do princípio ativo do medicamento genérico não apresenta diferenças estatisticamente significantes em relação ao de marca.

Como forma de simplificar, denominam-se por T o medicamento em Teste para ser genérico e R, o medicamento referência ou de marca. Deve-se notar que nem todos os medicamentos podem ser genéricos devido a dificuldade para verificar bioequivalência e equivalência farmacêutica. A Resolução *n*º 135 de 29/05/2003 apresenta a lista de medicamentos que não são

aceitos como genéricos.

No primeiro capítulo, serão abordados conceitos relacionados a biodisponibilidade do medicamento e será feito também uma revisão do método de bioequivalência média utilizado atualmente no Brasil. No capítulo 2 e 3 serão apresentados os métodos de bioequivalência individual, e no capítulo 4 será abordada a proposta de intervalo de confiança alternativo para medida de Kullback-Leibler e um comparativo de poder do teste entre alguns métodos de bioequivalência individual.

Capítulo 1

Revisão de Bioequivalência Média

1.1 Motivação e Objetivo do Trabalho

Existem três formas para determinar bioequivalência: Média, Populacional e Individual.

Atualmente, a regulamentação de países como Brasil, EUA e pertencentes a União Européia requer somente assegurar bioequivalência utilizando o método de bioequivalência média. Este método não considera a variabilidade das medidas farmacocinéticas analisadas para os medicamentos T e R, considera apenas suas médias. Não garantindo, assim, a intercambiabilidade entre os medicamentos em termos de eficácia e segurança, segundo definição de Chow e Liu [11] . Para isto, é necessário utilizar o método de bioequivalência individual. Daí, o interesse em pesquisar sobre novos métodos para determinar bioequivalência e assegurar intercambiabilidade entre os medicamentos, como o método de bioequivalência individual, que considera, além das médias, a variabilidade das medidas analisadas e a interação entre indivíduo e medicamento.

1.2 Histórico

A regulamentação da pesquisa em seres humanos iniciou-se em 1964 através da Declaração de Helsinki, que visava garantir segurança aos indivíduos envolvidos na pesquisa. Em 1988, o órgão regulatório americano FDA (Food and Drug Administration) publicou o Código de

Boas Práticas Clínicas, este também foi publicado pela OMS (Organização Mundial de Saúde) em 1995.

A utilização de estudos de bioequivalência iniciou-se no Canadá em 1969 através de uma legislação para registro compulsório de medicamento. E em 1977, o FDA publicou diretrizes para realização destes estudos.

No Brasil, a regulamentação da pesquisa envolvendo seres humanos iniciou-se com a Resolução nº 01/88, sendo revogada pela Resolução nº 196/96 e completada pela Resolução nº 251/97. Estas Resoluções foram criadas com o objetivo de definir normas e padrões éticos a serem seguidos para pesquisas que envolvem seres humanos. E, em 1999, foi publicada a Lei dos Genéricos nº 9787, que define as normas a serem seguidas em estudos de biodisponibilidade e bioequivalência.

A Lei dos Genéricos teve como objetivo disponibilizar medicamentos que apresentam o mesmo efeito terapêutico, eficácia e segurança que um medicamento já reconhecido no mercado, porém a um preço mais acessível a população.

Em fevereiro de 2003, existiam aproximadamente 700 registros destes medicamentos na ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária); em agosto de 2003 eram 878 registros. Isto mostra como o mercado brasileiro de medicamentos genéricos está tendo um rápido crescimento. Somente no ano de 2002 foram vendidas 73 milhões de unidades deste tipo de medicamento no país. Contudo, este número representa apenas 8% do mercado farmacêutico nacional, o que nos EUA corresponde a 40% de todo medicamento comercializado. Uma descrição do mercado pode ser visualizado através da tabela 1.1.

Tabela 1.1: Panorama de Comercialização do Medicamento Genérico

	Comercializados	Total
Genéricos Registrados	741	878
Fármacos Registrados	203	241
Medicamentos Apresentados	1181	3232

Fonte: ANVISA em 15/08/2003

De acordo com a tabela 1.1, haviam em agosto de 2003, 878 medicamentos genéricos registrados no país, sendo 67.54% nacionais e 32.46% importados. No caso de importados, Índia e Canadá possuem maior participação com 12.41% e 8.54% respectivamente. Do total de medicamentos registrados, 15.6% não estavam sendo comercializados até esta data.

1.3 Conceitos de Bioequivalência/Biodisponibilidade

Biodisponibilidade (BD): é definida pela quantidade e velocidade com a qual o princípio ativo é absorvido e torna-se disponível no sítio da ação do medicamento. É avaliada através da medida de concentração do princípio ativo do medicamento no sangue ou plasma. Entretanto, o sítio de ação é desconhecido para muitos medicamentos, desta forma, não é possível medir concentrações para estas medicamentos no sangue no sítio de ação. Neste caso, assume-se que a concentração da droga no sangue está relacionada com a disponibilidade no sítio de ação.

Fases: ao administrar um medicamento a um indivíduo, a droga geralmente passa pelas seguintes fases: (1) fase de absorção, (2) fase de distribuição, (3) fase de metabolização e (4) fase de eliminação.

Tipos de Administração da droga: os medicamentos podem ser administrados pelas vias: extravascular e intravascular. A via intravascular é aplicada diretamente na corrente sanguínea, enquanto que na via extravascular a administração pode ser oral, intramuscular, etc. A forma como o medicamento será administrado é importante, pois pode afetar a sua biodisponibilidade.

Os medicamentos administrados por via oral possuem diferentes formas de dosagem como: cápsula, suspensão, líquida e comprimido. Medicamentos administrados como cápsula ou comprimido geralmente passam por um processo de dissolução antes de serem absorvidos, e este processo depende do tamanho da partícula. Medicamentos como aspirina têm um crescimento na BD ao sofrerem uma redução de seus tamanhos.

A via extravascular é recomendada tanto pela ANVISA quanto pelo FDA, pois o medicamento após ser administrado é absorvido antes de entrar na corrente sanguínea e passa por um processo de metabolização no fígado, tendo assim, tempo suficiente para realização das

coletas de amostra sanguínea.

Bioequivalência (BE): é avaliada pela comparação de parâmetros farmacocinéticos relacionados à biodisponibilidade entre dois medicamentos, sendo o de marca considerado como referência, administrados pela mesma via extravascular e nas mesmas condições experimentais.

O medicamento genérico é intercambiável com o medicamento referência, produzido após expiração ou renúncia da patente. Ele deve possuir a mesma eficácia, segurança e qualidade que o medicamento referência, e seu nome é dado pelo princípio ativo do medicamento.

Dois medicamentos são bioequivalentes se as quantidades e velocidades de absorção não apresentem diferenças significativas, ou seja, estão dentro do intervalo de bioequivalência definido clinicamente quando administrado na mesma dose molar do princípio ativo e nas mesmas condições experimentais.

A ANVISA, assim como EUA e Canadá, isenta a realização de testes de bioequivalência para medicamentos em que o fármaco é 100% biodisponível ou que não necessite de absorção sistêmica para apresentar seu efeito. Neste caso, a intercambiabilidade entre o medicamento T e R é garantida apenas pela equivalência farmacêutica. Mais detalhes sobre os medicamentos isentos estão descritos na Resolução nº 897 de 29/05/2003.

Desde a introdução da Lei dos Genéricos, segundo informação fornecida pela ANVISA já foram realizados aproximadamente 748 testes de equivalência e 345 testes de bioequivalência. Um mesmo medicamento genérico, ou seja, que contenha o mesmo princípio ativo, pode ser comercializado por várias indústrias farmacêuticas distintas. Atualmente, existem 241 princípios ativos distintos para os 878 medicamentos registrados na ANVISA que são produzidos por um dos 46 laboratórios credenciados.

Etapas de Desenvolvimento de Nova droga:

O desenvolvimento de uma nova droga inicia-se com estudos pré-clínicos in vitro, em órgãos e cultura de células in vivo, seguido por experimentação animal, onde se estuda a toxicidade e eficácia da droga. Após passar por estas fases em testes rigorosos de segurança, é aprovada para ensaios clínicos com as seguintes fases:

Fase I é caracterizada pela primeira administração da droga em voluntários saudáveis ou portadores de doença, caso a droga seja tóxica.

Fase II caracteriza-se pela investigação clínica dos efeitos do medicamento aos pacientes e verificar a dose administrada em termos de eficácia e segurança.

Fase III corresponde a estudos clínicos multicêntricos com o objetivo de comparar a eficácia e segurança da nova droga com um medicamento padrão.

Fase IV compreende em estudos após a comercialização da droga.

Etapas de Desenvolvimento de Estudos de BE:

Após a expiração ou renúncia da patente, o medicamento de marca pode vir a ser comercializado como genérico, sendo necessários estudos de BD e BE com a seguintes etapas:

Clínica corresponde a administração do medicamento T e R em voluntários sadios em períodos distintos e coleta de amostras de sangue e urina em tempos pré-determinados.

Analítica caracteriza-se pela quantificação do fármaco nas amostras coletadas utilizando metodologia específica.

Estatística compreende o cálculo dos parâmetros farmacocinéticos necessários e determinação de bioequivalência através da análise estatística utilizando Teste de Hipóteses ou Intervalo de Confiança.

A figura 1.1 apresenta um resumo das fases necessárias para obtenção do medicamento genérico.

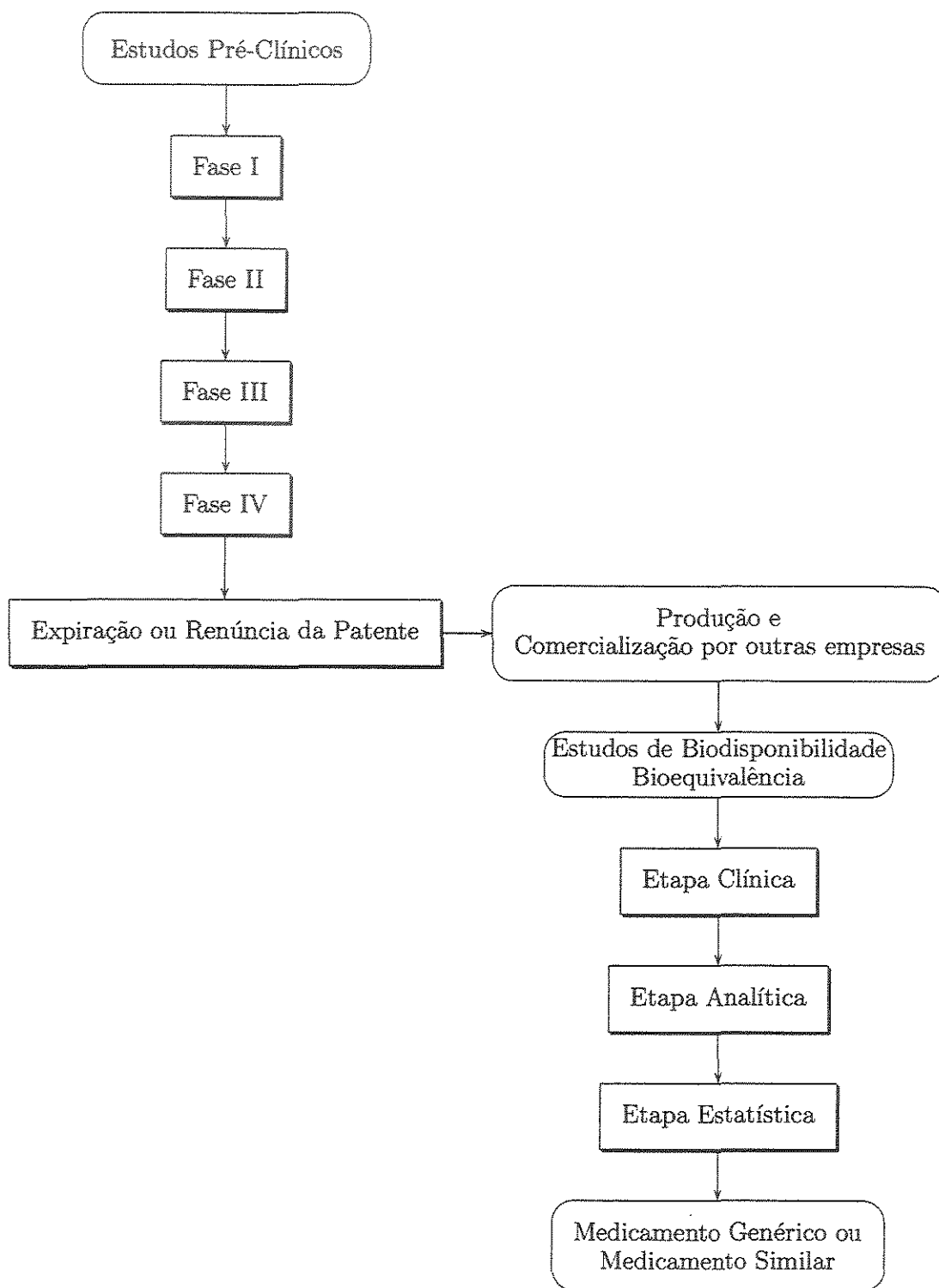


Figura 1.1: Etapas para Comercialização do Medicamento

1.4 Regras de Decisão

As regras para definir limites de bioequivalência foram propostas pelo FDA entre 1977 e 1992.

1. Regra 75/75

Corresponde a pelo menos 75% da população de indivíduos cuja razão entre as respostas dos medicamentos teste e referência de cada indivíduo esteja dentro do intervalo (75%, 125%).

Vantagens: compara a biodisponibilidade relativa para cada indivíduo, remove o efeito da heterogeneidade da variabilidade entre-indivíduo nas comparações e é de fácil aplicação.

Desvantagens: é sensível para medicamentos que possuem alta variabilidade entre-indivíduos e intra-indivíduos, e não controla o erro tipo I (erro referente ao consumidor-declarar bioequivalência quando a droga não é bioequivalente) num nível pré-especificado, se a variabilidade de T é maior que a de R.

2. Regra 80/20

Se a média do medicamento teste não é estatisticamente significante diferente da média do medicamento referência, e se há pelo menos poder do teste de 80% para detectar uma diferença de 20% na média do medicamento referência.

Vantagens: pode ser utilizada para cálculo de tamanho de amostra em estudo piloto.

Desvantagens: necessita de tamanho de amostra grande.

3. Regra ± 20

A biodisponibilidade média do medicamento teste está entre $\pm 20\%$ da biodisponibilidade média do medicamento referência com uma certa garantia.

4. Regra 80/125

A biodisponibilidade média do medicamento teste está entre (80%, 125%) da biodisponibilidade média do medicamento referência com uma certa garantia.

1.5 Medidas Farmacocinéticas

Após a administração do medicamento aos indivíduos, coleta-se amostras de sangue em tempos pré-determinados para medir a concentração do princípio ativo no sangue. A partir destas informações fornecidas pela concentração versus tempo de coleta, é possível calcular várias medidas que são exigidas pela agência reguladora. Para a ANVISA (Resolução nº 896 de 29/05/2003) e o FDA, a exigência das medidas dependem do tipo de dose administrada: múltipla ou única. Dose única corresponde a administrar o medicamento de preferência na forma de comprimido uma única vez ao voluntário, enquanto que em dose múltipla o medicamento é administrado segundo a sua posologia.

- Dose Simples

1. Área sob a curva (*ASC*)

Esta é a medida mais importante a ser avaliada em estudos de bioequivalência. É caracterizada pela curva de concentração plasmática do fármaco x tempo de coleta. É utilizada também para medir o total de medicamento absorvido e a respectiva taxa de absorção. Ela pode ser estimada através do ajuste de uma curva não-linear para cada indivíduo.

$$ASC = \frac{FD}{k * Vd}$$

onde:

FD= quantidade de fármaco absorvido e disponível para ser distribuído

Vd= volume da distribuição

k= constante de velocidade de eliminação do fármaco.

A *ASC* pode ser calculada até o último tempo de coleta ($ASC_{(0-t)}$), até o último tempo com concentração quantificável ($ASC_{(0-t_q)}$) ou considerando até tempo infinito ($ASC_{(0-\infty)}$). O método mais utilizado para este cálculo é o de interpolação linear utilizando a regra trapezoidal, onde calcula-se a área entre os pontos de coleta conforme exemplo fornecido pela figura 1.2.

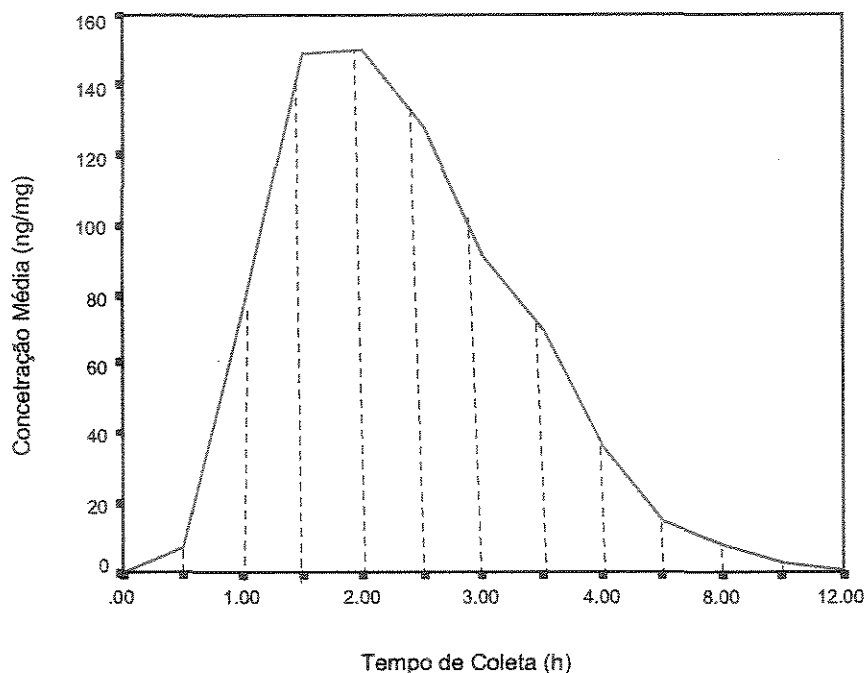


Figura 1.2: Exemplo da Área Sob a Curva

$$ASC_{(0-t)} = \sum_{i=2}^k \frac{C_{i-1} + C_i}{2} (t_i - t_{i-1}) \quad (1.1)$$

$$ASC_{(0-\infty)} = ASC_{0-t_q} + \frac{C_k}{k} \quad (1.2)$$

onde:

C_k = última concentração quantificável

De acordo com legislação brasileira, o valor de $ASC_{(0-t)}$ da equação 1.1 deve ser maior ou igual a 80% do valor de $ASC_{(0-\infty)}$ conforme equação 1.2.

A ocorrência de dados faltantes na ASC pode afetar a BD se forem próximos aos pontos finais de coleta. Mas, a ANVISA recomenda que não seja utilizado nenhum método de interpolação como forma de estimar o dado faltante.

2. C_{max}

Corresponde ao maior valor observado da concentração do princípio ativo e é proporcional ao total de droga absorvida pelo organismo. Segundo Endrenyi [18], esta medida está relacionada com a taxa e extensão de absorção devido a alta correlação com ASC. E uma medida proposta para a taxa de absorção é C_{max}/ASC .

3. T_{max}

Corresponde ao tempo de coleta na qual foi observado o valor de C_{max} .

• Dose Múltipla

Quando a droga é administrada em dose múltipla, eventualmente é encontrado o estado de equilíbrio, e medidas como ASC e C_{max} possuem menor variabilidade neste estado.

Assim, em estudos de BE é recomendável a administração de dose múltipla quando a droga possuir alta variabilidade, quando a concentração do princípio ativo na dose única é muito baixa, ie, não pode ser medida analiticamente, e quando existe diferença na taxa de absorção e não na taxa de extensão.

A administração de dose múltipla apresenta as seguintes vantagens e desvantagens:

Vantagens:

- Elimina longos períodos de eliminação entre as doses;
- Concentração pode ser medida nas mesma condição encontrada terapeuticamente;
- Reflete o uso clínico da droga.

Desvantagens:

- Requer maior tempo de estudo;
- É mais difícil para administrar e tem maior custo comparado ao estudo dose simples;
- Pode ocorrer aumento das reações adversas, devido a um maior tempo de exposição.

Para dose múltipla são necessárias análise das seguintes medidas farmacocinéticas:

1. $ASC_{(0-\tau)}$

Corresponde a Área sob a curva de concentração do princípio ativo do tempo 0 até tempo τ , onde τ é o intervalo entre as doses no estado de equilíbrio.

2. C_{max}

É verificado após a administração da última dose.

3. T_{max}

Da mesma forma que C_{max} , é coletado após administração da última dose do medicamento.

4. C_{min}

Corresponde a concentração da droga no final de cada intervalo de administração.

5. C_{med}

Corresponde a concentração média da droga no estado de equilíbrio.

$$C_{med} = \frac{ASC_{(0-\tau)}}{\tau}$$

6. Grau de Flutuação

$$100\% \frac{(C_{max} - C_{min})}{C_{med}}$$

• Outras Medidas

1. Volume da distribuição

Corresponde ao volume líquido necessário para conter todo o fármaco no organismo na mesma concentração presente no sangue ou plasma. Esta medida pode variar de acordo com as características dos indivíduos, sendo importante a seleção de indivíduos homogêneos.

$$V_d = \frac{\text{quantidade de fármaco no organismo}}{\text{concentração do fármaco}}$$

2. Meia Vida

Tempo para que a concentração plasmática do fármaco diminua a 50%. É utilizada em estudo piloto para determinação dos tempos de coleta e período de eliminação. Detalhes da fórmula pode ser visto no Apêndice A.

$$t_{\frac{1}{2}} = \frac{\log 2}{k}$$

3. Depuração

Capacidade do organismo de determinado indivíduo eliminar o fármaco.

$$D = Vd * k$$

Para determinação de bioequivalência entre 2 medicamentos é necessário a comparação de suas respectivas medidas Cmax, Tmax e ASC_{0-t} , segundo Resolução ANVISA nº 896 de 29/05/2003.

1.6 Administração/Amostra

Segundo o Manual da ANVISA [2], os voluntários selecionados para o estudo são hospitalizados na noite anterior ao estudo, visando reduzir possíveis influências externas nos resultados. Estes voluntários devem permanecer em jejum por no mínimo 8 horas antes do início da administração do medicamento.

O número de coletas necessárias dependerá das características farmacocinéticas do medicamento, sendo que a primeira coleta deverá ser efetuada 30 minutos antes da administração do medicamento.

Durante todo o período de internação, os voluntários devem ser monitorados quanto aos dados vitais (pulso, temperatura e pressão arterial) e ao surgimento de reações adversas.

1.7 Planejamento de Experimentos

Ao escolher o tipo de planejamento que será utilizado, deve-se ter em vista os objetivos do estudo, forma de coleta de dados, tipos de análises estatísticas a serem realizadas, pois os métodos de análise estatística a serem empregados e os resultados obtidos dependem do tipo de planejamento escolhido.

Um planejamento adequado deve identificar, estimar e remover a variabilidade entre-indivíduo da análise.

A escolha de um planejamento adequado depende de vários critérios:

- Número de medicamentos a serem comparados;
- Características da droga e sua biodisponibilidade;
- Objetivo do estudo;
- Variabilidade entre e intra-indivíduo;
- Duração do período e número de períodos utilizados;
- Custo de acrescentar um voluntário em relação a adição de um período;
- Taxa de desistência (*dropout*).

Em estudos de bioequivalência, o planejamento *Crossover* é recomendado tanto pela ANVISA quanto pelo FDA, exceto quando o tipo Completamente Aleatorizado for mais adequado.

Para análise através do método de bioequivalência média (BEM), a ANVISA recomenda utilizar o planejamento *Crossover 2x2*.

1.7.1 Aleatorização

A suposição de aleatorização é extremamente importante para inferências estatísticas e aplicação de modelos estatísticos, pois garante que os erros são variáveis aleatórias independentes e identicamente distribuídas. A forma como é feita a aleatorização depende do tipo de planejamento escolhido. Para implantação da aleatorização, pode-se usar tabelas de números aleatórios ou programa que tenha a rotina de sorteio aleatório.

1.7.2 Transformação de Variáveis

A ANVISA recomenda que medidas farmacocinéticas como ASC e C_{max} sejam transformadas utilizando logaritmo natural ou na base 10. Entretanto, não é recomendável verificar a normalidade dos erros após a transformação, pois como a amostra de estudos de BD e BE é pequena a distribuição dos dados não é confiável.

O FDA define três razões para a transformação logarítmica: Clínica, Farmacocinética e Estatística. (1) A razão Clínica é que a medida μ_T/μ_R é preferível a diferença $\mu_T - \mu_R$, e a relação entre este fato e a transformação dos dados é baseada em considerações estatísticas. Pois, um modelo estatístico linear pode ser usado para os dados transformados para fazer inferências sobre $\log(\mu_T/\mu_R)$ que podem ser redefinidas em termos de μ_T/μ_R . (2) A razão farmacocinética é baseada no modelo comportamental multiplicativo de Westlake [58]. O modelo multiplicativo passa a ser um modelo linear após transformação logarítmica. (3) A razão estatística é que na escala original os dados são assimétricos e parecem mais ter distribuição lognormal que distribuição normal. Outro ponto, é que muitos métodos paramétricos padrões não produzem boas inferências para a razão entre as médias, enquanto que inferências para a diferença na escala logarítmica são bem ajustadas por estes métodos.

1.7.3 Planejamento Completamente Aleatorizado

Neste tipo de planejamento, cada indivíduo recebe somente um tipo de medicamento: teste ou referência. Os indivíduos selecionados são aleatorizados em dois grupos de tratamentos: teste e referência, que geralmente possuem o mesmo número de indivíduos.

Neste planejamento, não é possível identificar e nem separar efeitos como a variação entre e intra-indivíduos, pois cada indivíduo recebe somente um dos medicamentos durante o estudo.

Este planejamento é utilizado como alternativa para o *crossover* se:

- A variabilidade entre-indivíduo é relativamente pequena quando comparada a variabilidade intra-indivíduo;
- A droga administrada é tóxica ou tem meia-vida de eliminação muito longa;

- O custo de acrescentar indivíduos é menor do que adicionar outros períodos;
- A população de interesse consiste de indivíduos com determinada doença.

1.7.4 Planejamento Crossover

Neste planejamento, cada bloco pode ser constituído de um indivíduo ou grupo de indivíduos que recebe mais do que um medicamento em diferentes períodos de tempo. Cada bloco recebe uma seqüência diferente dos medicamentos. Conseqüentemente, precisa-se de uma amostra menor para ter o mesmo poder do teste comparado ao planejamento completamente aleatorizado. Uma das vantagens deste tipo de planejamento é que os tratamentos são comparados intra-indivíduos. Assim, é possível fazer uma comparação direta dos tratamentos que cada indivíduo recebe, removendo o efeito do indivíduo.

O planejamento *crossover* deve ser utilizado na ausência de efeitos residuais (causado por medicamentos com meia-vida longa ou período de eliminação curto), pois pode haver confundimento entre o efeito de seqüência e o efeito residual.

As vantagens deste tipo de planejamento são :

- Cada indivíduo serve como seu próprio controle, permitindo a comparação intra-indivíduo;
- A variabilidade entre-indivíduo é removida da comparação entre medicamentos;
- Com aleatorização adequada, produz estimador não viciado de variância uniformemente mínima (ENVUMV) para diferença (ou razão) entre medicamento teste e referência.

Para este tipo de planejamento deve-se considerar os seguintes itens:

Tempo de Coleta: deve conter de 3 a 5 vezes a meia-vida do princípio ativo. É recomendável que os tempos para os medicamentos a serem comparados sejam os mesmos.

Número de Voluntários: deve ser suficiente para garantir a confiabilidade dos resultados.

Período de eliminação (*washout*): é definido como o intervalo de tempo necessário para que o efeito residual de um medicamento administrado num período não esteja presente na administração do próximo período. Este período varia de acordo com a natureza do medicamento.

A ANVISA recomenda no mínimo sete meias-vidas de eliminação do princípio ativo.

Efeito da droga: corresponde ao efeito observado durante o período em que a droga é administrada.

Efeito residual (*carryover*): corresponde ao efeito da droga após o final do período de dosagem.

Os efeitos *carryover* podem estar presentes nos últimos k períodos de tratamentos. Neste caso, são chamados de efeitos *carryover* de ordem k .

Modelo Estatístico

Ao utilizar o planejamento *crossover*, é importante remover o efeito *carryover* das comparações, pois pode haver confundimento entre este efeito e o efeito da seqüência. Para avaliar esses efeitos, considere o modelo *crossover* $s \times p$, escrito sob a forma de diferença da média geral, onde temos s seqüências e p diferentes períodos. Este modelo será denominado de modelo I.

$$Y_{ijm} = \mu + S_{ij} + P_m + F_{i,m} + C_{(i,m-1)} + \varepsilon_{ijm} \quad (1.3)$$

com $j = 1, \dots, n_i$ representando indivíduo, $m = 1, \dots, p$ representando período e $i = 1, \dots, s$ corresponde a seqüência. É necessário supor as seguintes restrições para identificabilidade dos parâmetros:

$$\sum_{m=1}^p P_m = 0, \quad \sum F_{i,m} = 0, \quad C_{(i,0)} = 0,$$

$$\sum C_{(i,m-1)} = 0,$$

onde:

Y_{ijm} = resposta farmacocinética na escala logarítmica para o j -ésimo indivíduo no m -ésimo período para a i -ésima seqüência; μ = média geral; S_{ij} = efeito aleatório do j -ésimo indivíduo na i -ésima seqüência; P_m = efeito fixo do m -ésimo período; $F_{i,m}$ = efeito fixo do tratamento na i -ésima seqüência quando administrado no m -ésimo período; $C_{(i,m-1)}$ = efeito fixo residual de 1ª ordem do tratamento na i -ésima seqüência quando administrado no $(m-1)$ -ésimo período e ε_{ijm} = erro aleatório.

Assumimos que S_{ij} são independentes e identicamente distribuídos (*i.i.d*) com média 0 e variância σ_S^2 ; ε_{ijm} são independentes distribuídos com média 0 e variância σ_{Wk}^2 , onde $k = T, R$, e S_{ij} e ε_{ijm} são mutuamente independentes. Geralmente, utilizam-se as estimativas de σ_S^2 e σ_{Wk}^2 para explicar a variabilidade entre-indivíduo e intra-indivíduo, respectivamente.

O modelo *crossover* também pode ser escrito sob a forma de diferença de médias de T e R, considerando agora s seqüências e r o número de replicações. Entende-se por replicação o número de vezes que uma formulação é repetida dentro de uma seqüência s . Por exemplo, em experimentos *crossover* 2x2, $r=1$; em experimentos 2x3, r pode ser 1 ou 2 dependendo do planejamento dentro de cada seqüência e em experimentos *crossover* 2x4 $r=2$. O modelo proposto por Esinhart e Chinchilli [10] e que iremos denominar de modelo II é escrito como:

$$Y_{ijkl} = \mu_k + \gamma_{ikl} + \delta_{ijk} + \varepsilon_{ijkl} \quad (1.4)$$

com:

$$i = 1, \dots, s \quad j = 1, \dots, n_i \quad k = T, R \quad l = 1, \dots, r$$

e μ_k corresponde ao efeito fixo para média populacional do medicamento k ; γ_{ikl} corresponde ao efeito fixo para a l -ésima repetição do medicamento k na seqüência i ; δ_{ijk} é o efeito aleatório para o indivíduo j na seqüência i recebendo medicamento k e ε_{ijkl} é o erro aleatório. Assumimos que,

$$\varepsilon_{ijkl} \text{ são i.i.d. } \sim N(0, \sigma_{Wk}^2),$$

$$\delta_{ij} = [\delta_{ijT}, \delta_{ijR}]' \sim N_2 \left(0, \begin{pmatrix} \sigma_{BT}^2 & \rho\sigma_{BT}\sigma_{BR} \\ \rho\sigma_{BT}\sigma_{BR} & \sigma_{BR}^2 \end{pmatrix} \right),$$

onde N_2 é normal bivariada, σ_{BR}^2 e σ_{BT}^2 correspondem as variâncias entre-indivíduos dos medicamentos R e T, respectivamente.

Para identificabilidade dos parâmetros também supomos a seguinte restrição:

$$\sum_{i=1}^s \sum_{l=1}^r \gamma_{ikl} = 0 \quad \text{para } k = T, R$$

Tanto o modelo I quanto o modelo II pode ser representado pela seguinte forma matricial:

$$Y = X\beta + Z\delta + \varepsilon \quad (1.5)$$

onde X é matriz de planejamento associada ao vetor de efeitos fixos β , Z corresponde a matriz de planejamento associada ao vetor de efeitos aleatórios δ e ε corresponde ao vetor de erro aleatório.

A seguir, iremos descrever os três planejamentos mais utilizados.

Planejamento *Crossover 2x2*

Este é o planejamento mais utilizado em bioequivalência média e é composto de 2 medicamentos administrados em 2 períodos, medicamento referência (R) e medicamento genérico ou em teste (T). As tabelas 1.2 e 1.3 apresentam os efeitos fixos para um planejamento do tipo *crossover 2x2* sob os modelos I e II, com as restrições dos parâmetros.

Tabela 1.2: Efeitos do Modelo I para *Crossover 2 x 2*

Seqüência	1 ^o Período	2 ^o Período
1 (RT)	$\mu_{11} = \mu + P_1 + F_R$	$\mu_{21} = \mu - P_1 - F_R + C_R$
2 (TR)	$\mu_{12} = \mu + P_1 - F_R$	$\mu_{22} = \mu - P_1 + F_R - C_R$

onde: $\mu_{im} = E(Y_{ijm})$, $P_1 + P_2 = 0$, $C_R + C_T = 0$ e $F_R + F_T = 0$.

Tabela 1.3: Efeitos do Modelo II para *Crossover* 2 x 2

Seqüência	1º Período	2º Período
1 (RT)	$\mu_{11} = \mu_R + \gamma_{1R1}$	$\mu_{21} = \mu_T + \gamma_{1T1}$
2 (TR)	$\mu_{12} = \mu_T - \gamma_{1T1}$	$\mu_{22} = \mu_R - \gamma_{1R1}$

onde: $\gamma_{1R1} + \gamma_{2R1} = 0$ e $\gamma_{1T1} + \gamma_{2T1} = 0$

Cada indivíduo do estudo é alocado aleatoriamente para uma das duas seqüências, de forma que, alocado na seqüência 1 (RT) ou 2 (TR), receberá R(T) no primeiro período e T(R) no segundo período. O período entre as administrações dos medicamentos (período de eliminação) deverá ser adequado para que o medicamento administrado no primeiro período seja eliminado antes do início do segundo período. Com o objetivo de estimar o efeito do medicamento, assumimos que não existem efeito do período e efeitos *carryover*, pois é possível eliminar o efeito do período ao conduzir um estudo bem planejado e eliminar os efeitos *carryover* se houver um período de eliminação adequado. Entretanto, é necessário verificar a ausência destes efeitos antes de prosseguir a análise.

Como para cada indivíduo do estudo são observadas respostas referentes ao período 1 e período 2, podemos considerar um vetor aleatório bivariado composto destas informações. Assim temos:

$$Y_{ij} = (Y_{ij1}, Y_{ij2}) \quad \text{com } i = 1, 2 \text{ e } j = 1, \dots, n_i$$

A matriz de covariância associado ao modelo I é a seguinte:

$$\Sigma = \begin{bmatrix} \sigma_{WT}^2 + \sigma_S^2 & \sigma_S^2 \\ \sigma_S^2 & \sigma_{WR}^2 + \sigma_S^2 \end{bmatrix}$$

Considerando agora o modelo II, a matriz de covariância associada é dada por:

$$\Sigma = \begin{bmatrix} \sigma_{WT}^2 + \sigma_{BT}^2 & \rho\sigma_{BT}\sigma_{BR} \\ \rho\sigma_{BT}\sigma_{BR} & \sigma_{WR}^2 + \sigma_{BR}^2 \end{bmatrix}$$

Supondo que as variabilidades intra-indivíduo são iguais ($\sigma_{WT}^2 = \sigma_{WR}^2 = \sigma_e^2$) e também que as variabilidades entre-indivíduo são iguais para T e R ($\sigma_{BT}^2 = \sigma_{BR}^2 = \sigma_S^2$), pois neste tipo de planejamento não é possível estimá-las, então obtemos

$$\Sigma = \begin{bmatrix} \sigma_e^2 + \sigma_S^2 & \sigma_S^2 \\ \sigma_S^2 & \sigma_e^2 + \sigma_S^2 \end{bmatrix}$$

O planejamento *crossover* 2 x 2 pode não ser apropriado nos seguintes casos: (1) quando existe efeito *carryover* ou (2) quando os efeitos *carryover* presentes são diferentes para os medicamentos T e R. Para o caso (1), não é possível estimar alguns efeitos fixos, pois não há graus de liberdade suficiente para estimá-lo separadamente do efeito de seqüência. Já no caso (2), não existe estimador não viciado para o efeito da droga em ambos os períodos. Para ambos os casos é recomendável utilizar planejamento *crossover* de ordem superior, no qual se tem número de períodos maior do que o número de medicamentos, ou número de seqüências maior do que número de medicamentos a serem comparados.

No apêndice B são apresentados os procedimentos para testar cada efeito baseado no Teste *t*-Student para duas amostras independentes. Um resumo contendo o estimador e a estatística de teste para cada efeito é apresentado na tabela B.1, de forma que, rejeitamos igualdade entre os efeitos analisados ao nível de significância α se o valor observado da estatística correspondente for maior que o valor tabelado da distribuição *t*-Student com nível de significância $\alpha/2$ e $(n_1 + n_2 - 2)$ graus de liberdade.

Utilizando o modelo matricial da expressão 1.5 e as condições de restrição para identificabilidade dos parâmetros, lembrando que Y_{ijm} corresponde ao vetor de respostas para seqüência $i = 1, 2$, indivíduo $j = 1, \dots, n_i$ e $m = 1, 2$ para período. Desta forma, o modelo I pode ser descrito como:

$$Y_{2(n_1+n_2) \times 1} = X_{2(n_1+n_2) \times 4} \beta_{4 \times 1} + Z_{2(n_1+n_2) \times 2} \delta_{2 \times 1} + \varepsilon_{2(n_1+n_2) \times 1}$$

$$\begin{bmatrix} Y_{111} \\ Y_{112} \\ \vdots \\ Y_{1n_11} \\ Y_{1n_12} \\ \hline Y_{211} \\ Y_{212} \\ \vdots \\ Y_{2n_21} \\ Y_{2n_22} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 & 1 & 1 & 0 \\ 1 & -1 & -1 & 1 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ 1 & 1 & 1 & 0 \\ 1 & -1 & -1 & 1 \\ \hline 1 & 1 & -1 & 0 \\ 1 & -1 & 1 & -1 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ 1 & 1 & -1 & 0 \\ 1 & -1 & 1 & -1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \mu \\ P_1 \\ F_R \\ C_R \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} 1 & 0 \\ 1 & 0 \\ \vdots & \vdots \\ 1 & 0 \\ 1 & 0 \\ \hline 0 & 1 \\ 0 & 1 \\ \vdots & \vdots \\ 0 & 1 \\ 0 & 1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} S_1 \\ S_2 \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} \varepsilon_{111} \\ \varepsilon_{112} \\ \vdots \\ \varepsilon_{1n_11} \\ \varepsilon_{1n_12} \\ \hline \varepsilon_{211} \\ \varepsilon_{212} \\ \vdots \\ \varepsilon_{2n_21} \\ \varepsilon_{2n_22} \end{bmatrix}$$

onde P_1 corresponde ao efeito de período, F_R corresponde ao efeito de tratamento e C_R ao efeito de sequência.

Considerando agora o modelo II, que neste tipo de planejamento é um modelo saturado, pois número de parâmetros é igual ao número de caselas (no caso 4) temos:

$$Y_{2(n_1+n_2)X1} = X_{2(n_1+n_2)X4}\beta_{4X1} + Z_{2(n_1+n_2)X4}\delta_{4X1} + \varepsilon_{2(n_1+n_2)X1}$$

$$\begin{bmatrix} Y_{111} \\ Y_{112} \\ \vdots \\ Y_{1n_11} \\ Y_{1n_12} \\ \hline Y_{211} \\ Y_{212} \\ \vdots \\ Y_{2n_21} \\ Y_{2n_22} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 1 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ 1 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 1 \\ \hline 0 & 1 & 0 & -1 \\ 1 & 0 & -1 & 0 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ 0 & 1 & 0 & -1 \\ 1 & 0 & -1 & 0 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \mu_R \\ \mu_T \\ \gamma_{1R1} \\ \gamma_{1T1} \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 \\ \hline 0 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ 0 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \delta_{1R} \\ \delta_{1T} \\ \delta_{2T} \\ \delta_{2R} \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} \varepsilon_{111} \\ \varepsilon_{112} \\ \vdots \\ \varepsilon_{1n_11} \\ \varepsilon_{1n_12} \\ \hline \varepsilon_{211} \\ \varepsilon_{212} \\ \vdots \\ \varepsilon_{2n_21} \\ \varepsilon_{2n_22} \end{bmatrix}$$

onde γ_{1R1} corresponde ao efeito diferencial da replicação da formulação R na sequência 1 e γ_{1T1} corresponde ao efeito diferencial da replicação da formulação T na sequência 1.

Planejamento *Crossover* de Ordem Superior

Este tipo de planejamento é recomendado para assegurar bioequivalência individual e como alternativa para verificar bioequivalência média sob a presença de efeitos *carryover*. O planejamento *crossover* 2x2 não pode ser utilizado na presença de efeitos *carryover* e supõe que não existe efeito de período e sequência, pois efeito de sequência está confundido com efeitos *carryover* e interação período x medicamento. Enquanto que o planejamento *crossover* 2x4, além de estimar a variabilidade intra-indivíduo, possibilita testar o efeito da sequência na presença de efeitos de período, *carryover* e da droga, como forma de verificar se a aleatorização foi adequada. Assim, considere o modelo da equação 1.6:

$$Y_{ijm} = \mu + G_i + S_{ij} + P_m + F_{i,m} + C_{(i,m-1)} + \varepsilon_{ijm} \quad (1.6)$$

onde: G_i corresponde ao efeito da sequência i com $i = 1, 2$, $j = 1, \dots, n_i$ para indivíduo e $m = 1, \dots, p$ para período

Assumimos que S_{ij} são (i.i.d.) com distribuição Normal com média 0 e variância σ_s^2 e ε_{ijm} também são (i.i.d) com distribuição Normal com média 0 e variância σ_e^2 . S_{ik} e ε_{ijk} são independentes.

No planejamento *crossover* 2x4, temos dois medicamentos R e T sendo administrados duas vezes para cada indivíduo em um dos quatro períodos distintos, e a ordem de administração difere para cada uma das duas seqüências. Para o planejamento *crossover* 2x3, os medicamentos T e R são administrados duas vezes somente em uma das seqüências.

Com relação ao *crossover* 2x4, há várias formas de alocar os medicamentos T e R nos 4 períodos, mas o FDA recomenda que seja administrado TRTR para a 1ª seqüência e RTRT para a 2ª seqüência. Já em relação ao *crossover* 2x3, o FDA recomenda que seja administrado TRT para a 1ª seqüência e RTR para a 2ª seqüência.

Para o planejamento *crossover* 2x3 (TRT, RTR) podemos considerar um vetor aleatório

composto das respostas referentes aos três períodos. Assim temos:

$$Y_{ij} = (Y_{ij1}, Y_{ij2}, Y_{ij3}) \quad \text{com } i = 1, 2 \text{ e } j = 1, \dots, n_i$$

As matrizes de covariância associadas ao modelo I para sequência 1(Σ_1) e para sequência 2(Σ_2) são dadas por:

$$\Sigma_1 = \begin{bmatrix} \sigma_{WT}^2 + \sigma_S^2 & \sigma_S^2 & \sigma_S^2 \\ \sigma_S^2 & \sigma_{WR}^2 + \sigma_S^2 & \sigma_S^2 \\ \sigma_S^2 & \sigma_S^2 & \sigma_{WT}^2 + \sigma_S^2 \end{bmatrix} \text{ e } \Sigma_2 = \begin{bmatrix} \sigma_{WR}^2 + \sigma_S^2 & \sigma_S^2 & \sigma_S^2 \\ \sigma_S^2 & \sigma_{WT}^2 + \sigma_S^2 & \sigma_S^2 \\ \sigma_S^2 & \sigma_S^2 & \sigma_{WR}^2 + \sigma_S^2 \end{bmatrix}$$

Considerando agora o modelo II, as matrizes de covariância associadas para sequência 1 e 2 são dadas por:

$$\Sigma_1 = \begin{bmatrix} \sigma_{WT}^2 + \sigma_{BT}^2 & \rho\sigma_{BT}\sigma_{BR} & \rho\sigma_{BT}\sigma_{BR} \\ \rho\sigma_{BT}\sigma_{BR} & \sigma_{WR}^2 + \sigma_{BR}^2 & \rho\sigma_{BT}\sigma_{BR} \\ \rho\sigma_{BT}\sigma_{BR} & \rho\sigma_{BT}\sigma_{BR} & \sigma_{WT}^2 + \sigma_{BT}^2 \end{bmatrix} \text{ e } \Sigma_2 = \begin{bmatrix} \sigma_{WR}^2 + \sigma_{BR}^2 & \rho\sigma_{BT}\sigma_{BR} & \rho\sigma_{BT}\sigma_{BR} \\ \rho\sigma_{BT}\sigma_{BR} & \sigma_{WT}^2 + \sigma_{BT}^2 & \rho\sigma_{BT}\sigma_{BR} \\ \rho\sigma_{BT}\sigma_{BR} & \rho\sigma_{BT}\sigma_{BR} & \sigma_{WR}^2 + \sigma_{BR}^2 \end{bmatrix}$$

As matrizes de covariância para o planejamento *crossover* 2x4 é obtido de forma semelhante ao *crossover* 2x3, e são apresentadas no capítulo 2.

As tabelas 1.6 e 1.7 apresentam os efeitos para o planejamento *crossover* 2x4 para as sequências 1(TRTR) e 2(RTRT), utilizando os modelos I e II.

De forma semelhante são apresentados os efeitos fixos para o planejamento *crossover* 2x3 para as sequências 1(TRT) e 2(RTR) nas tabelas 1.4 e 1.5.

Para estimar ou testar os efeitos *carryover* e efeitos devido a droga, é necessário utilizar contrastes ortogonais para cada uma das respostas do período. A tabela C.1 apresenta estes coeficientes dos contrastes para cada um dos efeitos, e a tabela C.2 traz os estimadores e a estatística de teste para estes efeitos. As estatísticas de teste possuem distribuição *t*-Student com graus de liberdade e os testes são realizados da mesma forma que no planejamento *crossover* 2x2.

Tabela 1.4: Efeitos do Modelo I para Crossover 2x3

Seqüência	1º Período	2º Período	3º Período
1 (TRT)	$\mu_{11} = \mu + G_1 + P_1 - F_R$	$\mu_{21} = \mu + G_1 + P_2 + F_R - C_R$	$\mu_{31} = \mu + G_1 - P_1 - P_2 - F_R + C_R$
2 (RTR)	$\mu_{12} = \mu - G_1 + P_1 + F_R$	$\mu_{22} = \mu - G_1 + P_2 - F_R + C_R$	$\mu_{32} = \mu - G_1 - P_1 - P_2 + F_R - C_R$

onde: $G_1 + G_2$, $P_1 + P_2 + P_3 = 0$, $C_R + C_T = 0$ e $F_R + F_T = 0$.

Tabela 1.5: Efeitos do Modelo II para Crossover 2x3

Seqüência	1º Período	2º Período	3º Período
1 (TRT)	$\mu_{11} = \mu_T - \gamma_{1T2} - \gamma_{2T1}$	$\mu_{21} = \mu_R - \gamma_{2R1} - \gamma_{2R2}$	$\mu_{31} = \mu_T + \gamma_{1T2}$
2 (RTR)	$\mu_{12} = \mu_R + \gamma_{2R1}$	$\mu_{22} = \mu_T + \gamma_{2T1}$	$\mu_{32} = \mu_R + \gamma_{2R2}$

onde: $\gamma_{1R1} + \gamma_{2R1} + \gamma_{2R2} = 0$ e $\gamma_{1T1} + \gamma_{1T2} + \gamma_{2T1} = 0$

Tabela 1.6: Efeitos do Modelo I para Crossover 2x4

Seqüência	1º Período	2º Período	3º Período	4º Período
1 (TRTR)	$\mu_{11} = \mu + G_1 + P_1 - F_R$	$\mu_{21} = \mu + G_1 + P_2 + F_R - C_R$	$\mu_{31} = \mu + G_1 + P_3 - F_R + C_R$	$\mu_{41} = \mu + G_1 - P_1 - P_2 - P_3 + F_R - C_R$
2 (RTRT)	$\mu_{12} = \mu - G_1 + P_1 + F_R$	$\mu_{22} = \mu - G_1 + P_2 - F_R + C_R$	$\mu_{32} = \mu - G_1 + P_3 + F_R - C_R$	$\mu_{42} = \mu - G_1 - P_1 - P_2 - P_3 - F_R + C_R$

onde: $G_1 + G_2$, $P_1 + P_2 + P_3 + P_4 = 0$, $C_R + C_T = 0$ e $F_R + F_T = 0$.

Tabela 1.7: Efeitos do Modelo II para Crossover 2x4

Seqüência	1º Período	2º Período	3º Período	4º Período
1 (TRTR)	$\mu_{11} = \mu_T - \gamma_{1T2} - \gamma_{2T1} - \gamma_{2T2}$	$\mu_{21} = \mu_R - \gamma_{1R2} - \gamma_{2R1} - \gamma_{2R2}$	$\mu_{31} = \mu_T + \gamma_{1T2}$	$\mu_{41} = \mu_R + \gamma_{1R2}$
2 (RTRT)	$\mu_{12} = \mu_R + \gamma_{2R1}$	$\mu_{22} = \mu_T + \gamma_{2T1}$	$\mu_{32} = \mu_R + \gamma_{2R2}$	$\mu_{42} = \mu_T + \gamma_{2T2}$

onde: $\gamma_{1R1} + \gamma_{1R2} + \gamma_{2R1} + \gamma_{2R2} = 0$ e $\gamma_{1T1} + \gamma_{1T2} + \gamma_{2T1} + \gamma_{2T2} = 0$

Da mesma forma que no planejamento *crossover* 2x2, podemos escrever o modelo para o planejamento de ordem superior 2x3 ou 2x4 na forma matricial. Considere o modelo matricial da expressão 1.5 e as condições de restrição para identificabilidade dos parâmetros, lembrando que Y_{ijm} corresponde ao vetor de respostas para sequência $i = 1, 2$, indivíduo $j = 1, \dots, n_i$ e $m = 1, 2$ para período. Os modelos I e II para os planejamentos *crossover* 2x3 e *crossover* 2x4 são descritos como:

Crossover 2x3

Modelo I

$$Y_{3(n_1+n_2) \times 1} = X_{3(n_1+n_2) \times 6} \beta_{6 \times 1} + Z_{3(n_1+n_2) \times 2} \delta_{2 \times 1} + \varepsilon_{3(n_1+n_2) \times 1}$$

$$\begin{bmatrix} Y_{111} \\ Y_{112} \\ Y_{113} \\ \vdots \\ Y_{1n_11} \\ Y_{1n_12} \\ Y_{1n_13} \\ \text{---} \\ Y_{211} \\ Y_{212} \\ Y_{213} \\ \vdots \\ Y_{2n_21} \\ Y_{2n_22} \\ Y_{2n_23} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 & 1 & 1 & 0 & -1 & 0 \\ 1 & 1 & 0 & 1 & 1 & -1 \\ 1 & 1 & -1 & -1 & -1 & 1 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ 1 & 1 & 1 & 0 & -1 & 0 \\ 1 & 1 & 0 & 1 & 1 & -1 \\ 1 & 1 & -1 & -1 & -1 & 1 \\ \text{---} & \text{---} & \text{---} & \text{---} & \text{---} & \text{---} \\ 1 & -1 & 1 & 0 & 1 & 0 \\ 1 & -1 & 0 & 1 & -1 & 1 \\ 1 & -1 & -1 & -1 & 1 & -1 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ 1 & -1 & 1 & 0 & 1 & 0 \\ 1 & -1 & 0 & 1 & -1 & 1 \\ 1 & -1 & -1 & -1 & 1 & -1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \mu \\ G_1 \\ P_1 \\ P_2 \\ F_R \\ C_R \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} 1 & 0 \\ 1 & 0 \\ 1 & 0 \\ \vdots & \vdots \\ 1 & 0 \\ 1 & 0 \\ 1 & 0 \\ \text{---} & \text{---} \\ 0 & 1 \\ 0 & 1 \\ 0 & 1 \\ \vdots & \vdots \\ 0 & 1 \\ 0 & 1 \\ 0 & 1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} S_1 \\ S_2 \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} \varepsilon_{111} \\ \varepsilon_{112} \\ \varepsilon_{113} \\ \vdots \\ \varepsilon_{1n_11} \\ \varepsilon_{1n_12} \\ \varepsilon_{1n_13} \\ \text{---} \\ \varepsilon_{211} \\ \varepsilon_{212} \\ \varepsilon_{213} \\ \vdots \\ \varepsilon_{2n_21} \\ \varepsilon_{2n_22} \\ \varepsilon_{2n_23} \end{bmatrix}$$

Modelo II

$$Y_{3(n_1+n_2) \times 1} = X_{3(n_1+n_2) \times 6} \beta_{6 \times 1} + Z_{3(n_1+n_2) \times 4} \delta_{4 \times 1} + \varepsilon_{3(n_1+n_2) \times 1}$$

$$\begin{bmatrix} Y_{111} \\ Y_{112} \\ Y_{113} \\ \vdots \\ Y_{1n_11} \\ Y_{1n_12} \\ Y_{1n_13} \\ \hline Y_{211} \\ Y_{212} \\ Y_{213} \\ \vdots \\ Y_{2n_21} \\ Y_{2n_22} \\ Y_{2n_23} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 0 & 1 & -1 & -1 & 0 & 0 \\ 1 & 0 & 0 & 0 & -1 & -1 \\ 0 & 1 & 1 & 0 & 0 & 0 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ 0 & 1 & -1 & -1 & 0 & 0 \\ 1 & 0 & 0 & 0 & -1 & -1 \\ 0 & 1 & 1 & 0 & 0 & 0 \\ \hline - & - & - & - & - & - \\ 1 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 1 & 0 & 0 \\ 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ 1 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 1 & 0 & 0 \\ 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \mu_R \\ \mu_T \\ \gamma_{1T2} \\ \gamma_{2T1} \\ \gamma_{2R1} \\ \gamma_{2R2} \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} 0 & 1 & 0 & 0 \\ 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ 0 & 1 & 0 & 0 \\ 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 \\ \hline - & - & - & - \\ 0 & 0 & 0 & 1 \\ 0 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ 0 & 0 & 0 & 1 \\ 0 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \delta_{1R} \\ \delta_{1T} \\ \delta_{2T} \\ \delta_{2R} \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} \varepsilon_{111} \\ \varepsilon_{112} \\ \varepsilon_{113} \\ \vdots \\ \varepsilon_{1n_11} \\ \varepsilon_{1n_12} \\ \varepsilon_{1n_13} \\ \hline \varepsilon_{211} \\ \varepsilon_{212} \\ \varepsilon_{213} \\ \vdots \\ \varepsilon_{2n_21} \\ \varepsilon_{2n_22} \\ \varepsilon_{2n_23} \end{bmatrix}$$

Crossover 2x4

Modelo I

$$Y_{4(n_1+n_2)X1} = X_{4(n_1+n_2)X7}\beta_{7X1} + Z_{4(n_1+n_2)X2}\delta_{2X1} + \varepsilon_{4(n_1+n_2)X1}$$

$$\begin{bmatrix} Y_{111} \\ Y_{112} \\ Y_{113} \\ Y_{114} \\ \vdots \\ Y_{1n_11} \\ Y_{1n_12} \\ Y_{1n_13} \\ Y_{1n_14} \\ \text{---} \\ Y_{211} \\ Y_{212} \\ Y_{213} \\ Y_{214} \\ \vdots \\ Y_{2n_21} \\ Y_{2n_22} \\ Y_{2n_23} \\ Y_{2n_24} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 & 1 & 1 & 0 & 0 & -1 & 0 \\ 1 & 1 & 0 & 1 & 0 & 1 & -1 \\ 1 & 1 & 0 & 0 & 1 & -1 & 1 \\ 1 & 1 & -1 & -1 & -1 & 1 & -1 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ 1 & 1 & 1 & 0 & 0 & -1 & 0 \\ 1 & 1 & 0 & 1 & 0 & 1 & -1 \\ 1 & 1 & 0 & 0 & 1 & -1 & 1 \\ 1 & 1 & -1 & -1 & -1 & 1 & -1 \\ \text{---} & \text{---} & \text{---} & \text{---} & \text{---} & \text{---} & \text{---} \\ 1 & -1 & 1 & 0 & 0 & 1 & 0 \\ 1 & -1 & 0 & 1 & 0 & -1 & 1 \\ 1 & -1 & 0 & 0 & 1 & 1 & -1 \\ 1 & -1 & -1 & -1 & -1 & -1 & 1 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ 1 & -1 & 1 & 0 & 0 & 1 & 0 \\ 1 & -1 & 0 & 1 & 0 & -1 & 1 \\ 1 & -1 & 0 & 0 & 1 & 1 & -1 \\ 1 & -1 & -1 & -1 & -1 & -1 & 1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \mu \\ G_1 \\ P_1 \\ P_2 \\ P_3 \\ F_R \\ C_R \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} 1 & 0 \\ 1 & 0 \\ 1 & 0 \\ 1 & 0 \\ \vdots & \vdots \\ 1 & 0 \\ 1 & 0 \\ 1 & 0 \\ 1 & 0 \\ \text{---} & \text{---} \\ 0 & 1 \\ 0 & 1 \\ 0 & 1 \\ 0 & 1 \\ \vdots & \vdots \\ 0 & 1 \\ 0 & 1 \\ 0 & 1 \\ 0 & 1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} S_1 \\ S_2 \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} \varepsilon_{111} \\ \varepsilon_{112} \\ \varepsilon_{113} \\ \varepsilon_{114} \\ \vdots \\ \varepsilon_{1n_11} \\ \varepsilon_{1n_12} \\ \varepsilon_{1n_13} \\ \varepsilon_{1n_14} \\ \varepsilon_{211} \\ \varepsilon_{212} \\ \varepsilon_{213} \\ \varepsilon_{214} \\ \vdots \\ \varepsilon_{2n_21} \\ \varepsilon_{2n_22} \\ \varepsilon_{2n_23} \\ \varepsilon_{2n_24} \end{bmatrix}$$

Modelo II

$$Y_{4(n_1+n_2) \times 1} = X_{4(n_1+n_2) \times 8} \beta_{8 \times 1} + Z_{4(n_1+n_2) \times 4} \delta_{4 \times 1} + \varepsilon_{4(n_1+n_2) \times 1}$$

$$\begin{bmatrix} Y_{111} \\ Y_{112} \\ Y_{113} \\ Y_{114} \\ \vdots \\ Y_{1n_11} \\ Y_{1n_12} \\ Y_{1n_13} \\ Y_{1n_14} \\ \text{---} \\ Y_{211} \\ Y_{212} \\ Y_{213} \\ Y_{214} \\ \vdots \\ Y_{2n_21} \\ Y_{2n_22} \\ Y_{2n_23} \\ Y_{2n_24} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 0 & 1 & -1 & -1 & -1 & 0 & 0 & 0 \\ 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & -1 & -1 & -1 \\ 0 & 1 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ 0 & 1 & -1 & -1 & -1 & 0 & 0 & 0 \\ 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & -1 & -1 & -1 \\ 0 & 1 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 \\ \text{---} & \text{---} & \text{---} & \text{---} & \text{---} & \text{---} & \text{---} & \text{---} \\ 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 \\ 0 & 1 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 \\ 0 & 1 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \mu_R \\ \mu_T \\ \gamma_{1T2} \\ \gamma_{2T1} \\ \gamma_{2T2} \\ \gamma_{1R2} \\ \gamma_{2R1} \\ \gamma_{2R2} \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} 0 & 1 & 0 & 0 \\ 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 \\ 1 & 0 & 0 & 0 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ 0 & 1 & 0 & 0 \\ 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 \\ 1 & 0 & 0 & 0 \\ \text{---} & \text{---} & \text{---} & \text{---} \\ 0 & 0 & 0 & 1 \\ 0 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ 0 & 0 & 0 & 1 \\ 0 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \\ 0 & 0 & 1 & 0 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \delta_{1R} \\ \delta_{1T} \\ \delta_{2T} \\ \delta_{2R} \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} \varepsilon_{111} \\ \varepsilon_{112} \\ \varepsilon_{113} \\ \varepsilon_{114} \\ \vdots \\ \varepsilon_{1n_11} \\ \varepsilon_{1n_12} \\ \varepsilon_{1n_13} \\ \varepsilon_{1n_14} \\ \text{---} \\ \varepsilon_{211} \\ \varepsilon_{212} \\ \varepsilon_{213} \\ \varepsilon_{214} \\ \vdots \\ \varepsilon_{2n_21} \\ \varepsilon_{2n_22} \\ \varepsilon_{2n_23} \\ \varepsilon_{2n_24} \end{bmatrix}$$

Teste de Hipóteses

De forma geral, os efeitos fixos para os modelos I e II podem ser testados através das seguintes hipóteses:

$$H_0 : C_I \beta_I = 0 \text{ vs. } H_a : C_I \beta_I \neq 0$$

ou

$$H_0 : C_{II} \beta_{II} = 0 \text{ vs. } H_a : C_{II} \beta_{II} \neq 0$$

onde C_I e C_{II} são fornecidos de acordo com o efeito a ser testado, β_I e β_{II} correspondem ao vetor de efeitos fixos para os modelos I e II, respectivamente.

A seguir são formuladas as hipóteses para testar efeitos de período, seqüência e tratamento sob modelos I e II para os planejamentos *Crossover* 2x2, 2x3 e 2x4.

• *Crossover* 2x2

1. Efeito de Período

$$C_I = [0 \quad 1 \quad 0 \quad 0]$$

$$C_{II} = [0 \quad 0 \quad 1 \quad -1]$$

2. Efeito do Medicamento

$$C_I = [0 \quad 0 \quad 1 \quad 0]$$

$$C_{II} = [-1 \quad 1 \quad 0 \quad 0]$$

com $\beta_I = [\mu \quad P_1 \quad F_R \quad C_R]'$ e $\beta_{II} = [\mu_R \quad \mu_T \quad \gamma_{2T1} \quad \gamma_{2R1}]'$.

• *Crossover* 2x3

1. Efeito de Período

$$C_I = [0 \quad 0 \quad 1 \quad -1 \quad 0 \quad 0]$$

$$C_{II} = [0 \quad 0 \quad -1 \quad -2 \quad 2 \quad 1]$$

2. Efeito de Sequência

$$C_I = [0 \quad 1 \quad 0 \quad 0 \quad 0 \quad 0]$$

$$C_{II} = [0 \quad 0 \quad 0 \quad -2 \quad -2 \quad -2]$$

3. Efeito do Medicamento

$$C_I = [0 \ 0 \ 0 \ 0 \ 1 \ 0]$$

$$C_{II} = [-1 \ 1 \ 0 \ 0 \ 0 \ 0]$$

$$\text{com } \beta_I = [\mu \ G_1 \ P_1 \ P_2 \ F_R \ C_R]' \text{ e } \beta_{II} = [\mu_R \ \mu_T \ \gamma_{1T2} \ \gamma_{2T1} \ \gamma_{2R1} \ \gamma_{2R2}]'.$$

• *Crossover 2x4*

1. Efeito de Período

$$C_I = [0 \ 0 \ -2 \ -1 \ -1 \ 0 \ 0]$$

$$C_{II} = [0 \ 0 \ -1 \ -2 \ -1 \ 1 \ 2 \ 1]$$

2. Efeito de Sequência

$$C_I = [0 \ 1 \ 0 \ 0 \ 0 \ 0 \ 0]$$

$$C_{II} = [0 \ 0 \ 0 \ -2 \ -2 \ 0 \ -2 \ -2]$$

3. Efeito do Medicamento

$$C_I = [0 \ 0 \ 0 \ 0 \ 0 \ 1 \ 0]$$

$$C_{II} = [-1 \ 1 \ 0 \ 0 \ 0 \ 0 \ 0 \ 0]$$

$$\text{com } \beta_I = [\mu \ G_1 \ P_1 \ P_2 \ P_3 \ F_R \ C_R]' \text{ e } \beta_{II} = [\mu_R \ \mu_T \ \gamma_{1T2} \ \gamma_{2T1} \ \gamma_{2T2} \ \gamma_{1R2} \ \gamma_{2R1} \ \gamma_{2R2}]'.$$

Comparação entre os modelos I e II

Com o objetivo de comparar os modelos de diferença de média geral e diferença de médias de T e R com relação a análise de variância e estimativas dos parâmetros, selecionamos um exemplo com dados de planejamento *crossover* 2x2 disponível na página 73 da referência [13]. A tabela 1.8 apresenta as estimativas dos parâmetros para os modelos I e II, e a tabela 1.9 fornece a ANOVA para o modelo I. Analisando a tabela 1.9 nota-se que somente a variabilidade entre-indivíduos resultou em significativa (valor-p=0,0005). Um exemplo de aplicação para planejamento *crossover* 2x4 é fornecido na capítulo 3 seção 3.6.

Tabela 1.8: Estimativas de Máxima Verossimilhança

Parâmetro	Estimativa	Erro padrão
Modelo I		
μ	66,88	9,51
P_1	-1,73	3,73
F_R	-2,29	3,73
C_R	-4,79	3,73
Modelo II		
μ_R	85,02	6,73
μ_T	82,74	6,73
γ_{1R1}	-18,14	6,73
γ_{1T1}	-19,87	6,73

Tabela 1.9: ANOVA *Crossover* 2x2 com Modelo I

Fonte	g.l.	SQ.	QM.=SQ/g.l.	F	valor-p
Entre-Indivíduos					
<i>Carryover</i>	1	276,00	276,00	0,37	0,55
Resíduos	22	16.211,49	736,89	4,41	0,0005
Intra-Indivíduos					
Período	1	35,97	35,97	0,22	0,64
Medicamento	1	62,79	62,79	0,38	0,54
Resíduos	22	3679,43	167,25		
Total	47	20,265,67			

1.8 Bioequivalência Média (BEM)

A ANOVA permite estimar efeitos fixos como período, droga e efeitos *carryover* como análise preliminar. Entretanto, para verificar bioequivalência entre os dois medicamentos é necessário comparar medidas de biodisponibilidades dos medicamentos.

A equivalência entre um medicamento genérico e um de marca pode ser determinada através da similaridade em média e variabilidade entre os medicamentos.

O método BEM necessita que somente as médias das distribuições entre os medicamentos sejam similares. Existem várias metodologias estatísticas para avaliar BEM como: Intervalo de Confiança, Teste de Hipóteses Intervalar e Análise Bayesiana.

Na próxima seção, abordaremos apenas os métodos de Intervalo de Confiança e Testes de Hipóteses Intervalar.

1.8.1 Determinação de BEM

Considere o modelo para planejamento *crossover* geral da equação 1.3. Na prática assumimos que não existem efeitos *carryover* devido a um período de eliminação adequado. Dessa forma, o modelo pode ser reduzido para:

$$Y_{ijm} = \mu + S_{ij} + P_m + F_{i,m} + \varepsilon_{ijm} \quad (1.7)$$

Neste capítulo, utilizaremos o modelo da equação 1.7, onde os efeitos e distribuições S_{ij} e ε_{ijm} são como definidos no modelo da equação 1.3.

Sejam μ_T e μ_R as médias populacionais de alguma medida farmacocinética de T e R, respectivamente. Temos que, R e T são considerados bioequivalentes se a diferença $\mu_T - \mu_R$ ou a razão μ_T/μ_R estão dentro dos limites de bioequivalência especificados; a regra $\pm 20\%$ é mais utilizada.

A análise de comparação de médias pode utilizar métodos paramétricos, onde assumi-se uma distribuição para a medida farmacocinética, neste caso, distribuição Normal, e métodos não-paramétricos, onde nenhuma distribuição paramétrica é assumida.

Geralmente, é necessário utilizar transformações de variáveis, como a logarítmica. Assim, as análises consideradas incluem as variáveis com ou sem transformação. A tabela a seguir fornece a relação entre os parâmetros na escala original e logarítmica.

	Escala	
	Original	Logarítmica
Média	$\tilde{\mu}$	μ
Relação entre μ e $\tilde{\mu}$	$\tilde{\mu} = \exp \mu$	$\mu = \ln \tilde{\mu}$

1.8.2 Intervalo de Bioequivalência

- Medidas Farmacocinéticas sem Transformação

- Diferença de Médias

O intervalo de bioequivalência para diferença de médias é definido por:

$$\theta_{inf} \leq \tilde{\mu}_T - \tilde{\mu}_R \leq \theta_{sup}$$

Utilizando a regra $\pm 20\%$, temos : $\theta_{inf} = -0,2\mu_R$ e $\theta_{sup} = 0,2\mu_R$. Assim,

$$-0,2\mu_R < \tilde{\mu}_T - \tilde{\mu}_R < 0,2\mu_R$$

Mas, como os limites dependem do parâmetro populacional μ_R , utilizamos a média amostral como estimador, $\bar{y}_R$, e substituindo, obtemos:

$$-0,2\bar{y}_R \leq \tilde{\mu}_T - \tilde{\mu}_R \leq 0,2\bar{y}_R$$

- Razão de Médias

O intervalo para a razão de médias é definido por :

$$\delta_{inf} \leq \tilde{\mu}_T / \tilde{\mu}_R \leq \delta_{sup}$$

Sabemos que: $-0,2\mu_R \leq \tilde{\mu}_T - \tilde{\mu}_R \leq 0,2\mu_R$. Dividindo por μ_R , temos:

$$-0,2 \leq \frac{\tilde{\mu}_T}{\tilde{\mu}_R} - 1 \leq 0,2 \quad \Leftrightarrow \quad 0,8 \leq \frac{\tilde{\mu}_T}{\tilde{\mu}_R} \leq 1,2$$

- Medidas Farmacocinéticas com Transformação

- Razão de Médias

Temos que: $\delta_{inf} \leq \mu_T/\mu_R \leq \delta_{sup}$. Utilizando a regra $\pm 20\%$ e construindo intervalo de bioequivalência simétrico, temos:

$$0,80 \leq \frac{\tilde{\mu}_T}{\tilde{\mu}_R} \leq 1,25$$

- Diferença de Médias

Como $0,80 \leq \tilde{\mu}_T/\tilde{\mu}_R \leq 1,25$, aplicando logaritmo natural temos:

$$-0,2231 \leq \ln \tilde{\mu}_T - \ln \tilde{\mu}_R \leq 0,2231 \quad \Leftrightarrow \quad -0,2231 \leq \mu_T - \mu_R \leq 0,2231$$

1.8.3 Intervalo de Confiança

Segundo definição de Westlake [57], conclui-se BEM se o intervalo de confiança com coeficiente $(1 - 2\alpha)100\%$ está dentro dos limites de especificação fornecidos pela agência reguladora.

Para medidas farmacocinéticas sem transformação, a regra $\pm 20\%$ é mais utilizada, com nível de significância de 5% e coeficiente de confiança de 90% ou 95%, tanto para diferença quanto pela razão. Enquanto, que para medidas farmacocinéticas com transformação, a regra 80/125% é a mais utilizada, com nível de significância de 5% e coeficiente de confiança de 90% ou 95%, tanto para diferença quanto pela razão.

A seguir, apresentamos duas formas para construir Intervalo de Confiança, baseadas nos métodos paramétrico e não-paramétrico.

Método Paramétrico de intervalo com menor amplitude

- Medidas Farmacocinéticas sem Transformação

- Diferença de Médias

Sob a suposição de normalidade para a distribuição da medida farmacocinética, o intervalo de confiança para $\mu_T - \mu_R$ com coeficiente de confiança de $100(1 - 2\alpha)\%$ é $[LD_{inf}, LD_{sup}]$, para os seguintes planejamentos *crossover*:

Crossover 2x2

$$\left[(\bar{Y}_T - \bar{Y}_R) \pm t(\alpha, n_1 + n_2 - 2) \widehat{\sigma}_d \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}} \right]$$

onde:

$\bar{Y}_T$ = média de mínimos quadrados para medicamento Teste

$\bar{Y}_R$ = média de mínimos quadrados para medicamento Referência

n_1 = número de indivíduos da seqüência 1

n_2 = número de indivíduos da seqüência 2

$$\widehat{\sigma}_d = (QM_{intra}/2)^{1/2}$$

Crossover 2x4 na Presença de Efeitos Residuais

$$\left[\widehat{F}/R \pm t(\alpha, 3(n_1 + n_2) - 5) S \sqrt{\frac{11}{40} \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)} \right]$$

Crossover 2x4 na Ausência de Efeitos Residuais

$$\left[\widehat{F} \pm t(\alpha, 3(n_1 + n_2) - 4) S \sqrt{\frac{1}{4} \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)} \right]$$

onde:

$$S = (QM_{intra})^{1/2}$$

– Razão entre Médias

O intervalo de confiança para μ_T/μ_R é calculado utilizando o intervalo para diferença de médias calculado anteriormente e o fato que $(\mu_T/\mu_R)/\mu_R = (\mu_T/\mu_R) + 1$. Assumimos também que podemos substituir μ_R por seu estimador $\bar{y}_R$. Assim, o intervalo de confiança $[LR_{inf}, LR_{sup}]$ expresso em percentuais é:

$$\left[\left(\frac{LD_{inf}}{\bar{y}_R} + 1 \right) 100\%; \quad \left(\frac{LD_{sup}}{\bar{y}_R} + 1 \right) 100\% \right]$$

- Medidas Farmacocinéticas com Transformação

- Diferença de Médias

Neste caso, supomos que a medida farmacocinética na escala logarítmica tenha distribuição normal. O intervalo de confiança é obtido da mesma forma que no caso de diferença de médias para dados sem transformação.

O intervalo de confiança de $100(1 - 2\alpha)\%$ é denotado por:

$$[L\tilde{D}_{inf}; L\tilde{D}_{sup}]$$

- Razão entre Médias

O intervalo de confiança de $100(1 - 2\alpha)\%$ para a razão entre médias é dado por:

$$[L\tilde{R}_{inf}; L\tilde{R}_{sup}] = [\exp LD_{inf}; \exp LD_{sup}]$$

Concluimos bioequivalência se:

$$(LD_{inf}; LD_{sup}) \text{ ou } (L\tilde{D}_{inf}; L\tilde{D}_{sup}) \text{ estão no intervalo } (\theta_{inf}; \theta_{sup})$$

ou

$$(LR_{inf}; LR_{sup}) \text{ ou } (L\tilde{R}_{inf}; L\tilde{R}_{sup}) \text{ estão no intervalo } (\delta_{inf}; \delta_{sup})$$

Método Não-Paramétrico baseado no estimador de Hodges-Lehmann

Este método tem os seguintes passos para sua construção:

1. Calcular todos os possíveis pares de diferenças das diferenças de períodos entre as seqüências 1 (d_{a1}) e 2 (d_{b2}), ou seja, calcular $D_{ab} = d_{a1} - d_{b2}$, $a = 1, \dots, n_1$, $b = 1, \dots, n_2$, que são estimativas de $\theta = \mu_T - \mu_R$ para todos os pares de diferenças;
2. Ordenar as $n_1 n_2$ diferenças:
 $D(1) < D(2) < \dots < D(n_1 n_2)$;
3. Calcular a mediana de $D(a)$, $a = 1, \dots, n_1 n_2$, que é estimador pontual de $\theta = \mu_T - \mu_R$, e é denominado Estimador de Hodges-Lehmann;

4. Identificar o valor de $D(a)$ que corresponde aos percentis α e $1 - \alpha$, $D(W(\alpha))$ e $D(W(1 - \alpha))$, respectivamente.

O intervalo de confiança é definido por:

$[D(W(\alpha)); D(W(1-\alpha))+1]$, e conclui-se bioequivalência se estiver dentro do limite $(\theta_{inf}; \theta_{sup})$

1.8.4 Teste de Hipóteses

Baseado na idéia de que dois medicamentos são consideradas equivalentes se seus perfis diferirem por menos do que um limite especificado, Schuirmann em [49], sugere o uso de teste de hipóteses intervalares para verificar BEM.

H_0 : não bioequivalentes vs. H_a : bioequivalentes

Fixando o erro tipo I, $\alpha = P(\text{rejeitar } H_0 / H_0 \text{ verdadeira})$, e utilizando hipóteses intervalar, temos:

- Diferença de Médias

$$H_{01} : \mu_T - \mu_R \leq \theta_{inf} \quad e \quad H_{02} : \mu_T - \mu_R \geq \theta_{sup}$$

vs

$$H_{a1} : \mu_T - \mu_R > \theta_{inf} \quad e \quad H_{a2} : \mu_T - \mu_R < \theta_{sup}$$

Se utilizarmos a medida farmacocinética sem transformação, temos $\theta_{inf} = -0,2\mu_R$ e $\theta_{sup} = 0,2\mu_R$.

Se a medida analisada é com transformação, utilizamos $\theta_{inf} = \ln(0,80) = -0,2231$ e $\theta_{sup} = \ln(1,25) = 0,2231$.

- Razão entre Médias

$$H_{01} : \mu_T/\mu_R \leq \delta_{inf} \quad e \quad H_{02} : \mu_T/\mu_R \geq \delta_{sup}$$

vs

$$H_{a1} : \mu_T/\mu_R > \delta_{inf} \quad e \quad H_{a2} : \mu_T/\mu_R < \delta_{sup}$$

Se utilizarmos a medida farmacocinética sem transformação, temos $\delta_{inf} = 80\%$ e $\delta_{sup} = 120\%$.

Se a medida analisada é com transformação, utilizamos $\delta_{inf} = 80\%$ e $\delta_{sup} = 125\%$.

Se rejeitarmos ambas as hipóteses H_{01} e H_{02} , temos que $\theta_{inf} \leq \mu_T - \mu_R \leq \theta_{sup}$ ou $\delta_{inf} \leq \mu_T/\mu_R \leq \delta_{sup}$. Assim, temos que T e R são bioequivalentes em média.

Assim, como foi discutido em Intervalo de Confiança, existem métodos paramétricos e não-paramétricos para teste de hipóteses intervalar. A seguir são apresentados os mais utilizados.

Método Paramétrico (Teste t -Schuirmann)

Baseado nos dois testes unilaterais que Schuirmann propôs, conclui-se que T e R são bioequivalentes se ambas as hipóteses H_{01} e H_{02} são rejeitadas com mesmo nível de significância α .

Sob suposição de normalidade da medida farmacocinética, concluímos que T e R são bioequivalentes com nível de significância α se:

Crossover 2x2

$$T_{inf} = \frac{(\bar{Y}_T - \bar{Y}_R) - \theta_{inf}}{\widehat{\sigma}_d \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}} \geq t(\alpha, n_1 + n_2 - 2) \quad (1.8)$$

$$T_{sup} = \frac{(\bar{Y}_T - \bar{Y}_R) - \theta_{sup}}{\widehat{\sigma}_d \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}} \leq -t(\alpha, n_1 + n_2 - 2) \quad (1.9)$$

Crossover 2x4 na Presença de Efeitos Residuais

$$T_{inf} = \frac{\widehat{F}/R - \theta_{inf}}{S \sqrt{\frac{11}{40} \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)}} \geq t(\alpha, 3(n_1 + n_2) - 5)$$

$$T_{sup} = \frac{\widehat{F}/R - \theta_{sup}}{S \sqrt{\frac{11}{40} \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)}} \leq -t(\alpha, 3(n_1 + n_2) - 5)$$

Crossover 2x4 na Ausência de Efeitos Residuais

$$T_{inf} = \frac{\widehat{F} - \theta_{inf}}{S \sqrt{\frac{1}{4} \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)}} \geq t(\alpha, 3(n_1 + n_2) - 4)$$

$$T_{sup} = \frac{\widehat{F} - \theta_{sup}}{S \sqrt{\frac{1}{4} \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)}} \leq -t(\alpha, 3(n_1 + n_2) - 4)$$

Método Não-Paramétrico (Teste de Wilcoxon-Mann-Whitney)

Como o planejamento *crossover* 2x2 possui duas seqüências, RT e TR, podemos aplicar o Teste de Wilcoxon-Mann-Whitney bilateral através do seguinte algoritmo:

1. Calcular as diferenças de períodos d_{jm} $j = 1, \dots, n_i$ $m = 1, 2$;
2. Obter o estimador de $\theta_h^* = (\mu_T - \mu_R) - \theta_h$ como funções lineares de d_{jm}

Para a seqüência 1 (RT), $b_{hjm} = d_{jm} - \theta_h$

E, para a seqüência 2 (TR), $b_{hjm} = d_{jm}$

onde: $h = inf, sup$;

3. Ordenar $b_{inf,j,1}$ $j = 1, \dots, n_1$ e $b_{inf,j,2}$ $j = 1, \dots, n_2$, numa amostra combinada e atribuir postos $R(b_{inf}, jm)$ aos dados ordenados;
4. Proceder passo 3 com $b_{sup,j,1}$ e $b_{sup,j,2}$

Somar os postos $R(b_{inf}, jm)$ e $R(b_{sup}, jm)$ dos indivíduos da seqüência 1, obtendo R_{inf} e R_{sup} , respectivamente.

Conclui-se BEM se:

$$W_{inf} = R_{inf} - n_1(n_1 + 1)/2 > W(1 - \alpha)$$

$$\text{e } W_{sup} = R_{sup} - n_1(n_1 + 1)/2 > W(\alpha)$$

onde: $W(1 - \alpha) = n_1 n_2 - W(\alpha)$ e $W(\alpha)$ são percentis da distribuição da estatística de Wilcoxon-Mann-Whitney. Este teste é semelhante ao Intervalo de Confiança baseado no Estimador de Hodges-Lehmann ao verificar BEM.

A aproximação normal pode ser utilizada quando $n_1 + n_2$ é grande e $n_1/n_2 \cong 0,5$. Assim, conclui-se BEM se:

$$Z_{inf} = \frac{W_{inf} - E(W_{inf})}{\sqrt{Var(W_{inf})}} = \frac{[R_{inf} - 0,5 n_1 (n_1 + n_2 + 1)]}{[0,0833 n_1 n_2 (n_1 + n_2 + 1)]^{1/2}} > z_\alpha$$

e

$$Z_{sup} = \frac{W_{sup} - E(W_{sup})}{\sqrt{Var(W_{sup})}} = \frac{[R_{sup} - 0,5 n_1 (n_1 + n_2 + 1)]}{[0,0833 n_1 n_2 (n_1 + n_2 + 1)]^{1/2}} > -z_\alpha$$

onde: z_α corresponde ao valor da distribuição normal padrão.

A tabela 1.10 apresenta um resumo dos métodos discutidos para verificar BEM.

Tabela 1.10: Métodos para Avaliar BEM

Método	Parâmetro	Estatística	Limite de BE
Intervalo de Confiança			
Intervalo com menor amplitude	$\mu_T - \mu_R$	$[LD_{inf}, LD_{sup}]$	$(-0, 2\bar{y}_R, 0, 2\bar{y}_R)$
	μ_T/μ_R	$[(LD_{inf}/\bar{y}_R) + 1, (LD_{sup}/\bar{y}_R) + 1]$	$(0, 8, 1, 2)$
	$\ln(\widetilde{\mu}_T/\widetilde{\mu}_R)$	$[LD_{inf}, LD_{sup}]$	$(-0, 2231, 0, 2231)$
	$\widetilde{\mu}_T/\widetilde{\mu}_R$	$[\exp(LD_{inf}), \exp(LD_{sup})]$	$(0, 8, 1, 25)$
Baseado no Estimador de Hodges-Lehmann	$\mu_T - \mu_R$	$[D(W(\alpha)), D(W(1 - \alpha) + 1)]$	$(-0, 2\bar{y}_R, 0, 2\bar{y}_R)$
Teste de Hipóteses			
Teste t -Schuirmann	$\mu_T - \mu_R$	$[T_{inf}, T_{sup}]$	$T_{inf} > t^a$ e $T_{sup} < -t^a$
Teste de Wilcoxon-Mann-Whitney	$\mu_T - \mu_R$	$[W_{inf}, W_{sup}]$	$W_{inf} > W(1 - \alpha)$ e $W_{sup} > W(\alpha)$

$t^a = t(\alpha, n_1 + n_2 - 2)$ para *crossover* 2x2 e $t^a = t(\alpha, 3(n_1 + n_2) - 5)$ ou $t^a = t(\alpha, 3(n_1 + n_2) - 4)$ para *crossover* 2x4 com ou sem efeitos residuais, respectivamente.

1.8.5 Poder do Teste e Tamanho de Amostra

Durante a fase de planejamento dos estudos de BD e BE, uma das questões importantes a serem consideradas é o tamanho da amostra. Como por exemplo, qual tamanho de amostra necessário para determinar BE com poder do teste de 80% para detectar uma diferença de 20% na média do medicamento R. Para responder à questões como estas pode-se buscar informações na literatura ou realizar um estudo piloto baseado na estimativa da variabilidade intra-indivíduo de estudos anteriores.

Geralmente, o tamanho da amostra é baseado na função poder da estatística do teste para hipóteses de igualdade entre os efeitos da medicamento. Mas, isto não é apropriado para avaliar BEM, pois o tamanho da amostra determinado pode não ser suficiente para fornecer poder suficiente. Assim, será apresentada o cálculo de tamanho de amostra baseado no teste de hipóteses intervalar.

Em teste de hipóteses, é possível cometer basicamente dois tipos de erros, denominados erros tipo I e II. O erro tipo I é definido por rejeitar a hipótese nula quando esta é verdadeira, enquanto que o erro tipo II é não rejeitar a hipótese nula quando esta é falsa. As probabilidades de cometer estes erros correspondem a:

$$\alpha = P(\text{erro tipo I}) = P(\text{rejeitar } H_0 / H_0 \text{ verdadeira})$$

$$\beta = P(\text{erro tipo II}) = P(\text{aceitar } H_0 / H_0 \text{ falsa})$$

Onde α , denominado nível de significância, é definido como risco do consumidor (paciente), enquanto β é denominado risco do produtor (indústria farmacêutica). O poder do teste é definido como a probabilidade de rejeitar a hipótese nula quando esta é falsa, que corresponde:

$$\text{Poder} = 1 - \beta = P(\text{rejeitar } H_0 / H_0 \text{ falsa})$$

Em estudos de BE e BD fixa-se o nível de significância, α , e tenta-se minimizar β através da escolha de um tamanho de amostra apropriado. Neste caso, as hipóteses mais adequadas a serem testadas são:

$$H_0 : \text{T e R não bioequivalentes} \text{ vs } H_a : \text{T e R bioequivalentes} \quad (1.10)$$

Poder para Teste t -Schuirmann

Considere as estatísticas do Teste t -Schuirmann em 1.8 e 1.9 para o planejamento *crossover* 2x2 e a seguinte substituição de variáveis:

$$Y = \bar{Y}_T - \bar{Y}_R \quad m = \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}} \quad s = \widehat{\sigma}_d \quad e \quad t = t(\alpha, n_1 + n_2 - 2).$$

Assim, temos :

$$t_1 = \frac{Y + \Delta}{ms} > t \quad e \quad t_2 = \frac{Y - \Delta}{ms} < -t,$$

e a hipótese nula de bioinequivalência média é rejeitada ao nível de significância α se o valor observado de Y está dentro da região de rejeição definida por:

$$\mathcal{R} = \{(Y, s) | -\Delta + tms < Y < \Delta + tms\}.$$

O Poder do Teste, $\phi_s(\theta)$, é definido por:

$$\phi_s(\theta) = P\{(Y, s) \in \mathcal{R} \mid \theta \in \Omega_a\},$$

onde Ω_a corresponde ao espaço paramétrico da hipótese alternativa, ou seja, $\mathcal{R}^c$.

Avaliando em $\theta = \theta_0$, temos:

$$\phi_s(\theta_0) = P \left\{ \frac{-\theta_0}{m\sigma_d} + \frac{-\Delta + tms}{m\sigma_d} < \frac{Y - \theta_0}{m\sigma_d} < \frac{-\theta_0}{m\sigma_d} + \frac{\Delta - tms}{m\sigma_d} \right\} \quad (1.11)$$

$$= E \left[P \left\{ \left[\frac{-\theta_0}{m\sigma_d} + \frac{-\Delta + tms}{m\sigma_d} < \frac{Y - \theta_0}{m\sigma_d} < \frac{-\theta_0}{m\sigma_d} + \frac{\Delta - tms}{m\sigma_d} \right] \middle| s \right\} \right] \quad (1.12)$$

Para resolver a equação 1.12 é necessário utilizar integração numérica. Phillips sugere em [41] o uso da distribuição t não central bivariada para T_{inf} e T_{sup} , com $n_1 + n_2 - 2$ graus de liberdade, coeficiente de correlação entre as variáveis é igual a 1 e parâmetros de não-centralidade:

$$NC_{inf} = \frac{\theta + \Delta}{m\sigma_d} \quad e \quad NC_{sup} = \frac{\theta - \Delta}{m\sigma_d}$$

e o Poder do Teste, $\phi_s(\theta)$, pode ser obtido por:

$$\phi_s(\theta) = P\{T_{inf} > t \text{ e } T_{sup} < -t | \theta_0, \sigma_d^2\} \quad (1.13)$$

Uma sugestão de fácil implementação para cálculo do Poder do Teste t -Schuirmann é o poder empírico, sendo necessário fixar o tamanho da amostra e os parâmetros θ e σ_d , conforme algoritmo a seguir.

Algoritmo

1. Especificar os parâmetros μ_T , μ_R , σ_d^2 e σ_s^2 ;
2. Gerar uma amostra aleatória com tamanho $n_1 + n_2$ de acordo com modelo da equação 1.7 e parâmetros especificados em 1;
3. Calcular T_{inf} e T_{sup} para os limites de equivalência especificados, θ_{inf} e θ_{sup} ;
4. Repetir os passos anteriores B vezes;
5. Poder Empírico corresponde a proporção das B amostras aleatórias em que $T_{inf} > t$ e $T_{sup} < -t$.

A função Poder para o planejamento *crossover* 2x4 é dada pela equação abaixo:

$$\phi_s(\theta) = F_{6n-5} \left(\left[(\Delta - \theta)/CV \sqrt{\frac{11}{20n}} \right] - t(\alpha, 6n - 5) \right) - F_{6n-5} \left(t(\alpha, 6n - 5) - \left[(\Delta + \theta)/CV \sqrt{\frac{11}{20n}} \right] \right),$$

onde:

F_{6n-5} corresponde a distribuição t acumulada com 6n-5 graus de liberdade.

Tamanho de Amostra para Hipótese Intervalar

A escolha do tamanho da amostra também é baseada no Teste *t*-Schuirmann, e assim, como o Poder do Teste é complicada de obter. Entretanto, um tamanho de amostra aproximado baseado na função poder pode ser facilmente determinado, conforme casos abaixo.

- Caso 1: $\theta = \mu_T - \mu_R = 0$ e $n_1 = n_2 = n$

Crossover 2x2

$$n_I \geq 2[t(\alpha, 2n - 2) + t(\beta/2, 2n - 2)]^2 \left(\frac{\widehat{\sigma}_d}{\Delta} \right)^2$$

Se utilizarmos a regra ± 20 com $\Delta = 0,2\mu_R$, temos:

$$n_I \geq [t(\alpha, 2n - 2) + t(\beta/2, 2n - 2)]^2 \left(\frac{CV}{20} \right)^2$$

onde $CV = 100(\sqrt{QM_{residual}}/\mu_R)$

Crossover 2x4

$$n_I \geq \frac{11}{20} [t(\alpha, 6n - 5) + t(\beta/2, 6n - 5)]^2 \left(\frac{CV}{\Delta} \right)^2$$

- Caso 2: $\theta \neq 0$ e $n_1 = n_2$

Como o poder do teste t -Schuirmann é simétrico sobre zero, podemos considerar somente o caso em que $\theta > 0$. Considere $0 < \theta = \theta_0 < \Delta$.

Crossover 2x2

$$n_I(\theta_0) \geq 2 [t(\alpha, 2n - 2) + t(\beta, 2n - 2)]^2 \left(\frac{\widehat{\sigma}_d}{\Delta - \theta_0} \right)^2$$

Se utilizarmos a regra ± 20 com $\Delta = 0, 2\mu_R$, temos:

$$n_I(\theta_0) \geq [t(\alpha, 2n - 2) + t(\beta, 2n - 2)]^2 \left(\frac{CV}{20 - \theta'_0} \right)^2$$

onde $\theta'_0 = 100(\theta_0/\mu_R)$

Crossover 2x4

$$n_I(\theta_0) \geq \frac{11}{20} [t(\alpha, 6n - 5) + t(\beta, 6n - 5)]^2 \left(\frac{CV}{\Delta - \theta_0} \right)^2$$

1.9 Desvantagens da BEM

Este método de bioequivalência não garante a intercambiabilidade entre um medicamento genérico e um medicamento de marca, conforme determina a Resolução. Assim, para avaliar a intercambiabilidade entre os medicamentos é necessário utilizar o método de bioequivalência individual.

Seja Y_{jkl} resposta da medida farmacocinética na escala original ou logarítmica para l – ésima repetição sob o k – ésimo medicamento para o j – ésimo indivíduo, com $l = 1, \dots, L$, $j = 1, \dots, N$, $k = T, R$. O modelo considerado é o modelo misto de 2 estágios com efeitos fixos de período, seqüência e formulação. Neste modelo, Y_{jkl} é independentemente distribuído com média μ_{jk} e variância σ_{Wjk}^2 , $j = 1, \dots, N$, $k = T, R$, onde μ_{jk} corresponde a biodisponibilidade média específica e σ_{Wjk}^2 , a variabilidade intra-indivíduo do j – ésimo. Note que estes dois parâmetros são diferentes para cada indivíduo presente no estudo.

Suponha que $\mu_{jl} = (\mu_{jT}, \mu_{jR})'$ tenha vetor de médias $\mu = (\mu_T, \mu_R)'$ e matriz de variância-covariância $\Sigma_B = \begin{pmatrix} \sigma_{BT}^2 & \rho\sigma_{BT}\sigma_{BR} \\ \rho\sigma_{BT}\sigma_{BR} & \sigma_{BR}^2 \end{pmatrix}$ onde:

μ_k = média populacional do medicamento k

σ_{Bk}^2 = variabilidade entre-indivíduo para medicamento k

ρ = coeficiente de correlação das médias específicas do indivíduo entre medicamento T e R.

Sob esta notação, pode-se reescrever o modelo misto 2 estágios como:

$$Y_{jkl} = \mu_{jk} + b_{jk} + e_{jk} \quad (1.14)$$

onde b_{jk} e e_{jk} são independentes e correspondem ao desvio médio da média populacional μ_k e a variabilidade intra-indivíduo, respectivamente. A esperança condicional para o j – *ésimo* indivíduo do modelo é definida por:

$$E_I(Y_{jkl}) = \mu_{jk} = \mu_k + b_{jk}$$

$$E(b_{jk}) = E(e_{jk}) = E_I(e_{jk}) = 0$$

$$Var(e_{jk}) = \sigma_{Wjk}^2$$

Para o j – *ésimo* indivíduo, b_{jT} e b_{jR} são correlacionados com coeficiente de correlação ρ , e a matriz de variância-covariância de $(b_{jT}, b_{jR})'$ é igual a Σ_B . A distribuição marginal de $Y_{jl} = (Y_{jTl}, Y_{jRl})'$ tem vetor de média $\mu = (\mu_T, \mu_R)'$ e matriz de covariância $\Sigma = \Sigma_B + \Sigma_W$, onde $\Sigma_W = \begin{pmatrix} \sigma_{WjT}^2 & 0 \\ 0 & \sigma_{WjR}^2 \end{pmatrix}$.

Sob suposição de normalidade, pode-se assegurar bioequivalência dentre cada indivíduo utilizando as variáveis:

$$\mu_{jD} = \mu_{jT} - \mu_{jR}$$

$$\delta_{jD} = \sigma_{WjT}^2 - \sigma_{WjR}^2 \text{ (ou } \sigma_{WjT}^2 / \sigma_{WjR}^2 \text{)}$$

Se as distribuições de T e R são suficientemente fechadas, então o valor absoluto μ_{jD} e δ_{jD} devem ser pequenos. E, se a distribuição de T está dentro da janela terapêutica estabelecida por R para o j – *ésimo* indivíduo, então T e R são bioequivalentes para o j – *ésimo* indivíduo. Onde janela terapêutica é definida como o intervalo da medida de BD em que a medicamento é eficaz e segura. Mas, as distribuições das respostas farmacocinéticas de T e R podem ser diferentes para cada indivíduo, conseqüentemente a janela terapêutica pode variar entre os indivíduos.

Para simplificação do problema, supõe-se que a variabilidade intra-indivíduo é a mesma para todos os indivíduos, ou seja, $\sigma_{WjR}^2 = \sigma_{WR}^2$ e $\sigma_{WjT}^2 = \sigma_{WT}^2$.

Para o modelo misto de dois estágios definido pela equação 1.14,

$\mu_{jD} = \mu_{jT} - \mu_{jR} = b_{jT} - b_{jR}$ com média $\mu_D = \mu_T - \mu_R$ e variância

$Var(\mu_{jD}) = \sigma_{BT}^2 + \sigma_{BR}^2 - 2\rho\sigma_{BT}\sigma_{BR}$, também denominada como variância da interação medicamento x indivíduo, σ_D^2 .

As seguintes características avaliam a qualidade do medicamento genérico:

- (1) diferença entre as médias de T e R ($\mu_T - \mu_R$)
- (2) variância da interação medicamento x indivíduo (σ_D^2)
- (3) diferença da variabilidade intra-indivíduo para T e R ($\sigma_{WT}^2 - \sigma_{WR}^2$)

A bioequivalência média requer que o intervalo de confiança para diferença das médias de T e R (ou a razão das médias de T e R) esteja dentro do intervalo de bioequivalência especificado. Para o cálculo deste intervalo de confiança utiliza a informação da variabilidade intra-indivíduo do medicamento sob suposição de que as variabilidades de T e R são iguais. Enquanto a bioequivalência individual, considera tanto a diferença de médias como a variabilidade da interação medicamento x indivíduo e a variabilidade intra-indivíduo, itens 2 e 3.

Uma avaliação do impacto de cada uma das componentes para verificar bioequivalência média e individual, pode ser vista em Midha e Endrenyi [40]. Neste artigo, verifica-se bioequivalência para seis diferentes cenários, criados através de combinações de ausência ou presença de cada uma das três componentes.

Capítulo 2

Revisão de Métodos Alternativos

2.1 Introdução

O método de bioequivalência média, utilizado atualmente para determinação de bioequivalência entre dois medicamentos, não é suficiente para garantir que um indivíduo tenha respostas similares quando submetidos a estes medicamentos. Métodos alternativos como Bioequivalência Populacional (BEP) e Individual (BEI) são propostos, mas para garantir intercambiabilidade entre o medicamento referência (R) e o medicamento genérico (T) é necessário que a bioequivalência seja avaliada dentre os mesmos indivíduos segundo definição de Chow e Liu em [11].

Medicamentos bioequivalentes são terapeuticamente equivalentes e devem ser intercambiáveis. De acordo com a definição de Hauck em [25] e Chow e Liu em [11], intercambiabilidade pode ser classificada em capacidade de prescrição (*prescribability*) e capacidade de troca (*switchability*).

Prescribability é definida como a escolha médica para prescrever um medicamento apropriado para um novo paciente entre um medicamento de marca e um determinado número de medicamentos genéricos, que são bioequivalentes, e o médico não possui qualquer informação a respeito da resposta terapêutica para este novo paciente, mas para uma determinada população de indivíduos. Assim, o médico tem somente a informação da comparação da distribuição marginal da resposta de T e de R para uma população de indivíduos. Este tipo de intercambiabilidade é avaliada através de Bioequivalência Populacional.

Switchability é definida por Chow e Liu [11] como a troca de um medicamento de marca por um genérico para o mesmo indivíduo, cuja concentração do princípio ativo seja eficaz e segura. É

avaliada através de Bioequivalência Individual.

Tanto a capacidade de troca quanto a de prescrição comparam as distribuições das respostas (ASC ou C_{max}) de T e R e verificam se as distribuições estão dentro da janela terapêutica especificada, definida como o intervalo da medida de BD em que a droga é eficaz e segura. Os limites inferior e superior da janela terapêutica são definidos como nível eficaz mínimo (NEM) e nível tolerado máximo (NTM). NEM corresponde ao menor nível da resposta farmacocinética tal que a droga se mantenha eficaz, e NTM ao maior nível tal que se mantenha segura. Estes limites variam de acordo com a droga, se a diferença entre os limites for pequena temos a janela terapêutica estreita, caso contrário temos a janela terapêutica ampla. A droga com janela terapêutica ampla permite uma maior variabilidade da distribuição da resposta farmacocinética quando comparada a janela terapêutica estreita. Assim, é mais difícil demonstrar bioequivalência para janela tipo estreita. As figuras 2.1 e 2.2 correspondem às curvas da distribuição média da ASC_{0-t} para os medicamentos R (curva contínua) e T para os casos de janela terapêutica ampla ou estreita.

Para avaliar a capacidade de prescrição, assumimos que todos os indivíduos possuem a mesma janela terapêutica, e para a capacidade de troca a janela terapêutica pode variar de indivíduo para indivíduo. O FDA classifica as drogas em 4 categorias através da janela terapêutica e da variabilidade intra-individual, onde a droga é considerada de alta variabilidade se a variabilidade intra-indivíduo for maior do que 30%, conforme tabela 2.1.

Para determinar BEI, é necessário analisar as distribuições marginais das medidas farmacocinéticas obtidas através da administração repetida de T e R para o mesmo indivíduo. Assim, é necessário planejamento *crossover* replicado para o estudo.

Sob a suposição de normalidade, é necessário estabelecer equivalência em média e variabilidade das duas distribuições marginais para cada indivíduo.

O Método de BEI garante que as distribuições das respostas farmacocinéticas dos indivíduos sob repetidas administrações de T e R são fechadas (*closeness*), além disso, avalia se ambas distribuições estão dentro da janela terapêutica estabelecida pelo medicamento referência.

Os critérios de avaliação podem ser baseados em momento ou em probabilidade.

O método baseado em momento utiliza funções de 3 características: (1) diferença entre as médias de T e R, (2) interação droga x indivíduo e (3) variabilidade intra-indivíduo para T e R. Este método é avaliado através do critério agregado e desagregado. O critério agregado avalia se a medida composta por uma combinação linear das 3 características é menor do que um limite superior especificado.

Enquanto que o método desagregado avalia se cada característica está dentro de seu respectivo limite especificado. O método baseado em probabilidade avalia se a probabilidade de que a diferença nas BD em um indivíduo que recebe T e R em períodos distintos estão dentro de um limite especificado.

A avaliação de BEP, assim como BEI, é composto do método baseado em momento e do método baseado em probabilidade. A avaliação do método baseado em momento pode ser realizada também através dos critérios agregado e desagregado. Estes critérios são baseados na diferença entre as médias de T e R e variância total de T e R.

Para verificar bioequivalência tanto utilizando o conceito de BEI quanto BEP, é utilizado Teste de Hipóteses. Entretanto, como requer estimação de alguns parâmetros, geralmente utiliza-se a construção de Intervalo de Confiança. E em alguns casos, este intervalo é obtido através de reamostragem bootstrap, pois a distribuição do critério não pode ser obtida.

O objetivo deste capítulo é realizar a revisão dos métodos de bioequivalência individual apresentados no livro de Chow [13]- Caps. 14 e 15, quanto ao conteúdo teórico, e implementar os algoritmos descritos em cada método utilizando SAS.

Tabela 2.1: Classificação das Drogas

Classe	Janela Terapêutica	Variabilidade Intra-Indivíduo
A	Estreita	Alta
B	Estreita	Baixa
C	Ampla	Baixa-Moderada
D	Ampla	Alta

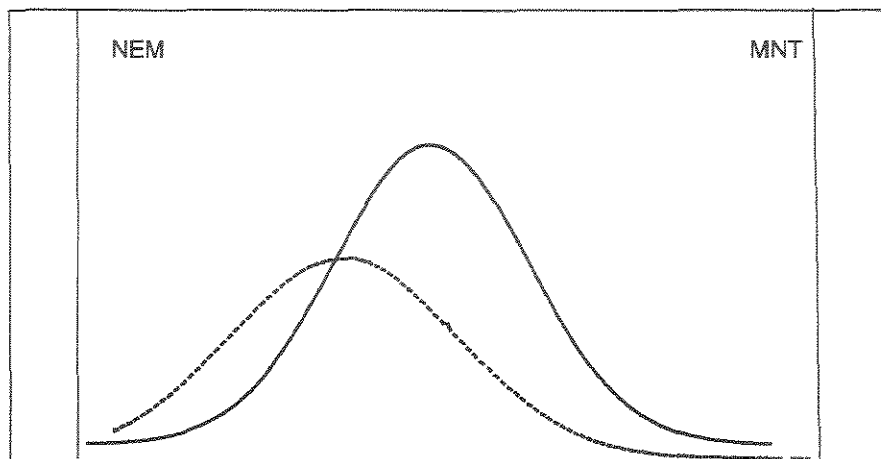


Figura 2.1: Exemplo de Janela Terapêutica Ampla para distribuição da média da *ASC* para os medicamentos R (linha contínua) e T.

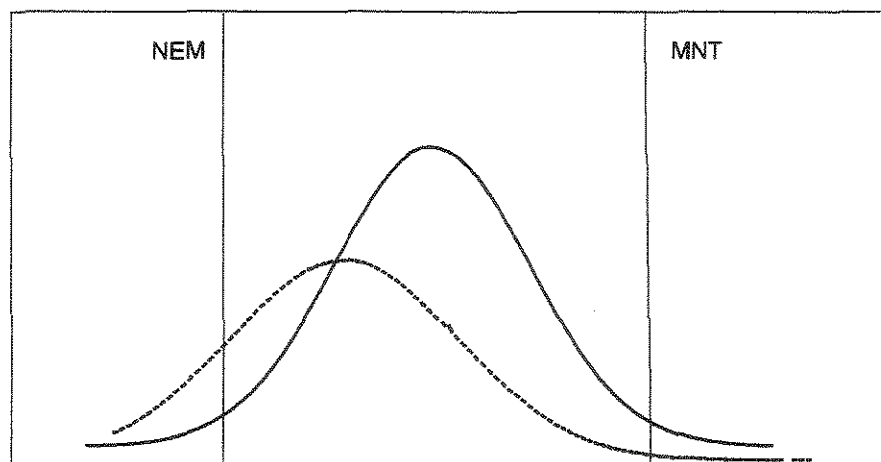


Figura 2.2: Exemplo de Janela Terapêutica Estreita para distribuição da média da *ASC* para os medicamentos R (linha contínua) e T.

2.2 Planejamento, Modelo e Estimação

Planejamento:

Considerando o modelo misto dois estágios da equação 1.14, temos que as respostas observadas para o j – *ésimo* indivíduo $(Y_{jT}, Y_{jR})'$ possui vetor de médias $(\mu_T, \mu_R)'$ e matriz de variância-covariância

$$\Sigma = \begin{pmatrix} \sigma_{WT}^2 + \sigma_{BT}^2 & \rho\sigma_{BT}\sigma_{BR} \\ \rho\sigma_{BT}\sigma_{BR} & \sigma_{WR}^2 + \sigma_{BR}^2 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \sigma_T^2 & \sigma_{TR}^2 \\ \sigma_{TR}^2 & \sigma_R^2 \end{pmatrix},$$

com σ_T^2 e σ_R^2 como variâncias das distribuições marginais de Y_{jT} e Y_{jR} , respectivamente. A variância para a diferença das respostas farmacocinéticas pareadas do j – *ésimo* indivíduo é dado por:

$$\begin{aligned} Var(Y_{jT} - Y_{jR})' &= \sigma_{WT}^2 + \sigma_{BT}^2 + \sigma_{WR}^2 + \sigma_{BR}^2 - 2\rho\sigma_{BT}\sigma_{BR} \\ &= \sigma_T^2 + \sigma_R^2 - 2\rho\sigma_{BT}\sigma_{BR}. \end{aligned}$$

Se o coeficiente de correlação ρ for positivo, então a variância para diferença deve ser menor que a soma das variâncias totais de T e R.

O critério agregado para BEP envolve somente funções da diferença de médias e da diferença entre as variâncias totais de T e R. Assim, não é necessário inferências para as variâncias intra e entre-indivíduo e para a variância da interação indivíduo x droga, como para avaliar BEI. Conseqüentemente, o planejamento do tipo *crossover* não apresenta mais vantagens sobre o completamente aleatorizado.

O tipo de planejamento mais recomendado para avaliar BEI é o *crossover* 2x4, descrito na seção 1.7. Embora alguns dos métodos a serem apresentados também permitam utilizar o *crossover* 2x3, é necessário um tamanho de amostra muito maior para obter o mesmo poder de teste para concluir BEI que o *crossover* 2x4. Pois, no *crossover* 2x4, as duas seqüências fornecem informações para estimação da variabilidade intra-indivíduo para T e R, enquanto que no planejamento *crossover* 2x3, cada uma das seqüências provém informações somente para a variabilidade de T ou R.

O procedimento para estimação dos parâmetros deste modelo foi proposto por Chinchilli e Esinhart em [10]. Embora possa ser utilizado em diversos tipos de planejamento *crossover* de ordem superior, aqui será utilizado o *crossover* 2x4 recomendado pelo FDA para avaliar BEI, em que é

administrado TRTR para a primeira seqüência e RTRT para a segunda seqüência, onde a administração dos medicamentos nos quatro períodos é intercalada por uma período de eliminação adequado. O FDA também recomenda utilizar o mesmo lote do medicamento para as repetidas administrações com o objetivo de eliminar a variabilidade do lote na estimação da variabilidade intra-indivíduo.

Modelo e Estimação:

Seja Y_{ijkl} a medida de biodisponibilidade na escala original ou logarítmica para a l – ésima repetição do medicamento k para o indivíduo j na seqüência i , onde $l = 1, 2$; $k = R, T$; $j = 1, \dots, n_i$; $i = 1, 2$ e o modelo linear de efeitos mistos para o caso de ausência de efeitos residuais:

$$Y_{ijkl} = \mu_k + \gamma_{ikl} + \delta_{ijk} + \varepsilon_{ijkl} \quad (2.1)$$

onde μ_k é o efeito fixo para média populacional do medicamento k ; γ_{ikl} corresponde ao efeito fixo para a l – ésima repetição do medicamento k na seqüência i ; δ_{ijk} é o efeito aleatório para o indivíduo j na seqüência i recebendo medicamento k e ε_{ijkl} é o erro aleatório.

Assumimos que ε_{ijkl} são i.i.d. com média zero e $Var(\varepsilon_{ijkl}) = \sigma_{Wk}^2$, que representa a variância intra-indivíduo para medicamento k . Denotamos o vetor de efeitos aleatórios de cada indivíduo de dimensão 2×1 por $\delta_{ij} = [\delta_{ijT}, \delta_{ijR}]'$, e supomos que os δ_{ij} são i.i.d. com distribuição normal bivariada com esperança zero e matriz de variância de dimensão 2×2

$$\Sigma_B = \begin{pmatrix} \sigma_{BT}^2 & \sigma_{TR}^2 \\ \sigma_{TR}^2 & \sigma_{BR}^2 \end{pmatrix},$$

onde σ_{BT}^2 e σ_{BR}^2 correspondem às variâncias entre-indivíduo para os medicamentos T e R, e $\sigma_{TR}^2 = \rho\sigma_{BT}\sigma_{BR}$ a covariância entre T e R. E ainda assumimos que ε_{ijkl} e δ_{ij} são mutuamente independentes.

O modelo descrito anteriormente contém 5 componentes da variância. Entretanto, nem todos estes componentes são identificáveis, podendo ser necessário impor restrições para estimá-los em alguns tipos de planejamento *crossover*. Para estimação dos parâmetros de locação é preciso supor condições para os parâmetros de perturbação. Considerando o modelo da equação 2.1, o parâmetro γ_{ikl} é de perturbação e precisamos supor a seguinte condição:

$$\sum_{i=1}^2 \sum_{l=1}^2 \gamma_{ikl} = 0 \quad k = T, R \quad (2.2)$$

i.e, a soma dos parâmetros de perturbação para o tratamento k deve ser nula.

O planejamento *crossover* precisa ter as seguintes propriedades para que os parâmetros de perturbação não estejam confundidos com o efeito direto do medicamento:

- 1) Ser uniforme dentre as seqüências (cada tratamento é administrado o mesmo número de vezes em cada seqüência), então o efeito da seqüência não está confundido com efeito do medicamento.
- 2) Ser uniforme dentre os períodos (cada tratamento é administrado o mesmo número de vezes), então efeito do período não está confundido com efeito do medicamento.
- 3) Ser balanceado com relação ao efeito *carryover* de 1^a ordem (cada tratamento precede o outro o mesmo número de vezes), então efeito *carryover* não está confundido com efeito do medicamento para o caso de efeitos *carryover* iguais.
- 4) Ser fortemente balanceado com relação ao efeito *carryover* de 1^a ordem (cada tratamento precede o outro o mesmo número de vezes incluindo ele mesmo), então efeito *carryover* não está confundido com efeito do medicamento.

Considerando o modelo linear misto com efeito *carryover* de 1^a ordem:

$$Y_{ijkl} = \mu_k + \lambda r_{ikl} + \gamma_{ikl} + \delta_{ijk} + \varepsilon_{ijkl} \quad (2.3)$$

onde λ corresponde ao efeito *carryover* comum e r_{ikl} à uma variável indicadora valendo 0 para o primeiro período e 1 para os demais períodos. Neste caso, além da condição da equação 2.2, é necessário supor que:

$$\sum_{(i,k,l) \in \mathfrak{S}} \gamma_{ikl} = 0 \quad (2.4)$$

onde $\mathfrak{S} = \{(i, k, l) : r_{ikl} = 1 \text{ para } l = 1, 2; k = T, R; i = 1, 2\}$, i.e, a soma dos parâmetros de perturbação nas células em que o efeito *carryover* esteja presente deve ser zero.

Para o modelo da equação 2.3, temos oito parâmetros de locação, sendo as médias populacionais μ_T e μ_R , o efeito *carryover* λ , e cinco parâmetros de perturbação de γ_{ikl} , também denominado como interação seqüência x período dentre medicamento. Apesar de termos oito parâmetros de perturbação, somente cinco não estão confundidos com outros parâmetros de efeitos fixos.

Considere o vetor de respostas para cada indivíduo $Y_{ij} = (Y_{ijT1}, Y_{ijT2}, Y_{ijR1}, Y_{ijR2})$ de dimensão 4x1, com Y_{ij} independentes com distribuição Normal Multivariada com vetor de médias $X_i\beta$ e matriz de covariância $\Omega = \begin{pmatrix} \sigma_{BT}^2 J_2 + \sigma_{WT}^2 I_2 & \sigma_{TR}^2 J_2 \\ \sigma_{TR}^2 J_2 & \sigma_{BR}^2 J_2 + \sigma_{WR}^2 I_2 \end{pmatrix}$, onde X_i é a matriz de planejamento de dimensão 4x8, β corresponde ao vetor de efeitos fixos de dimensão 8x1, J_2 e I_2 uma matriz de 1 e a matriz identidade de dimensões 2x2, respectivamente.

O modelo da equação 2.3 é saturado com número de parâmetros de locação igual ao número de médias seqüência x período, e a matriz X de dimensão 8x8 é posto-completo. Assim, os estimadores

para os efeitos fixos utilizando os métodos de máxima verossimilhança (MV), máxima verossimilhança restrita (MVR) e mínimos quadrados (MQ) podem ser obtidos utilizando teoria de modelo linear de efeitos misto de Laird e Ware [35], e são dados por:

$$\hat{\beta}_{MV} = (X' N \hat{\Gamma}_{MV}^{-1} X)^{-1} (X' N \hat{\Gamma}_{MV}^{-1} Y) = X^{-1} \bar{Y} \quad (2.5)$$

$$\hat{\beta}_{MVR} = (X' N \hat{\Gamma}_{MVR}^{-1} X)^{-1} (X' N \hat{\Gamma}_{MVR}^{-1} Y) = X^{-1} \bar{Y} \quad (2.6)$$

$$\hat{\beta}_{MQ} = (X' N X)^{-1} (X' N Y) = X^{-1} \bar{Y} \quad (2.7)$$

onde:

$$\bar{Y} = (\bar{Y}'_1, \bar{Y}'_2) \text{ com } \bar{Y}_i = (1/n_i) \sum Y_{ij}$$

$$X = (\bar{X}'_1, \bar{X}'_2)$$

$$\Gamma = \Omega \otimes I_2$$

$$N = I_4 \otimes n \text{ com } n \text{ matriz } 2 \times 2 \text{ com } n_1 \text{ e } n_2 \text{ na diagonal principal}$$

Pode-se notar que os estimadores para os efeitos fixos nas equações 2.5, 2.6 e 2.7 são iguais, e corresponde a uma função linear do vetor de respostas observado Y , não envolvendo, portanto, parâmetros da matriz de variância-covariância.

Em alguns planejamentos *crossover* é necessário processo iterativo para obter estimadores para os componentes da variância Ω . No entanto, como o planejamento *crossover* 2x4 que foi adotado é uniforme dentre as seqüências e os medicamentos T e R ocorrem exatamente duas vezes dentre cada seqüência, então existe forma fechada para os estimadores da variância e covariância de Ω . Mas, para obter estes estimadores, é necessário utilizar uma transformação posto-completo para Y_{ij} .

Para cada tratamento k dentro da seqüência i , transformamos Y_{ij} em: (1) média das duas respostas farmacocinéticas, (2) pelo contraste ortogonal correspondente definidos por:

$$\bar{Y}_{ijk} = \frac{1}{2} \sum_{l=1}^2 Y_{ijkl} \quad \text{e} \quad Y_{ijk1}^*, \text{ respectivamente.}$$

Seja, $Y_{ij}^* = (\bar{Y}_{ij}, Y_{ij}^*) = (\bar{Y}_{ijT}, \bar{Y}_{ijR}, Y_{ijT1}^*, Y_{ijR1}^*)$ $j = 1, \dots, n_i$; $i = 1, 2$. Tem-se que o vetor Y_{ij}^*

de dimensão 4x1 tem distribuição normal com vetor de média $E(Y_{ij}^*)$ e variância $\text{Var}(Y_{ij}^*)$, onde:

$$E(Y_{ij}^*) = [E(\bar{Y}_{ijT.}), E(\bar{Y}_{ijR.}), E(Y_{ijT1}^*), E(Y_{ijR1}^*)] \quad (2.8)$$

$$E(\bar{Y}_{ijk.}) = \mu_k + \lambda r_{ik.} + \gamma_{ik.} \quad (2.9)$$

$$E(Y_{ijk1}^*) = \nu_{ik} \quad (2.10)$$

$$\text{Var}(Y_{ij}^*) = \begin{pmatrix} \Lambda & 0 \\ 0 & \Gamma \end{pmatrix} \quad (2.11)$$

onde $\lambda r_{ik.}$ e $\gamma_{ik.}$ correspondem as médias de λr_{ikl} e γ_{ikl} , respectivamente, $\Lambda = \Sigma_B + (1/2)\Gamma$ e Γ é matriz diagonal de dimensão 2x2 com σ_{WT}^2 e σ_{WR}^2 na diagonal principal.

Pode-se notar através da equação 2.11 que $\bar{Y}_{ijk}$ e Y_{ijk}^* são não correlacionados e independentes, pois assumimos que ε_{ijkl} tem distribuição normal. Assim, pode-se obter a estimação de Λ e Γ separadamente.

Seja S matriz de dimensão 2x2 que representa a soma de quadrados e produtos cruzados para as médias amostrais específicas de cada indivíduo:

$$S = \left[\sum_i \sum_j (\bar{Y}_{ijk.} - \bar{Y}_{i.k.})(\bar{Y}_{ijk.} - \bar{Y}_{i'.k.}) \right]$$

onde $\bar{Y}_{i.k.} = \frac{1}{n_i} \sum \bar{Y}_{ijk.}$

Os estimadores de máxima verossimilhança (MV) e máxima verossimilhança restrita (MVR) para Λ e para a variância intra-indivíduo para o medicamento k , σ_{Wk}^2 , são dados por:

$$\hat{\Lambda}_{MV} = (1/N)S \quad (2.12)$$

$$\hat{\Lambda}_{MVR} = [1/(N-2)]S \quad (2.13)$$

$$\hat{\sigma}_{Wk,MV}^2 = (1/N) \left[\sum_i \sum_j (Y_{ijk1}^* - \bar{Y}_{i.k1})^2 \right] \quad (2.14)$$

$$\hat{\sigma}_{Wk,MVR}^2 = [1/(N-2)] \left[\sum_i \sum_j (Y_{ijk1}^* - \bar{Y}_{i.k1})^2 \right] \quad (2.15)$$

onde:

$$N = n_1 + n_2$$

$$\bar{Y}_{i.k1} = (1/n_i) \sum Y_{ijk1}^* \text{ para } k = T, R$$

Da equação 2.11, tem-se que os estimadores para σ_{BT}^2 , σ_{BR}^2 e σ_{TR}^2 são dados por:

$$\hat{\sigma}_{Bk,MV}^2 = \hat{\delta}_{Bk,MV}^2 - (1/2)\hat{\sigma}_{Wk,MV}^2 \quad (2.16)$$

$$\hat{\sigma}_{Bk,MVR}^2 = \hat{\delta}_{Bk,MVR}^2 - (1/2)\hat{\sigma}_{Wk,MVR}^2 \quad (2.17)$$

$$\hat{\sigma}_{TR,MV}^2 = \hat{\delta}_{TR,MV}^2 \quad (2.18)$$

$$\hat{\sigma}_{TR,MVR}^2 = \hat{\delta}_{TR,MVR}^2 \quad (2.19)$$

onde $\hat{\delta}_{Bk,MV}^2$, $\hat{\delta}_{TR,MV}^2$, $\hat{\delta}_{Bk,MVR}^2$ e $\hat{\delta}_{TR,MVR}^2$ correspondem aos valores obtidos de $\hat{\Lambda}_{MV}$ e $\hat{\Lambda}_{MVR}$ nas equações 2.12 e 2.13.

Note que os estimadores de MVR, $\hat{\sigma}_{Bk,MVR}^2$, $\hat{\sigma}_{Wk,MVR}^2$ e $\hat{\sigma}_{TR,MVR}^2$ são não viciados para $k = T, R$. Portanto, um estimador não viciado para variância da interação indivíduo x droga pode ser obtido por:

$$\hat{\sigma}_{D,MVR}^2 = [\hat{\sigma}_{BT,MVR}^2 + \hat{\sigma}_{BR,MVR}^2 - 2\hat{\sigma}_{TR,MVR}^2] \quad (2.20)$$

2.3 Métodos Baseado em Momento

Seja $d(Y_k; Y_{k'})$ alguma medida de distância entre as respostas Y_k e $Y_{k'}$, com k e $k' = T, R$. Para o método de momento esta medida corresponde a :

$$d(Y_k; Y_{k'}) = \begin{cases} E(Y_T - Y_R)^2, & \text{se } k = T \text{ e } k' = R \\ E(Y_R - Y_R)^2, & \text{se } k = R \text{ e } k' = R \end{cases}$$

Considerando as diferenças intra-indivíduo, $d(Y_T; Y_R)$ e $d(Y_R; Y_R')$, pode-se verificar que:

$$d(Y_T; Y_R) = E(Y_T - Y_R)^2 = (\mu_T - \mu_R)^2 + \sigma_D^2 + \sigma_{WT}^2 + \sigma_{WR}^2 \text{ e}$$

$$d(Y_R; Y_R') = E(Y_R - Y_R')^2 = 2\sigma_{WR}^2$$

onde:

μ_T = média populacional do medicamento T,

μ_R = média populacional do medicamento R,

σ_D^2 = variância da interação tratamento x indivíduo,

σ_{WT}^2 = variabilidade intra-indivíduo do medicamento T e

σ_{WR}^2 = variabilidade intra-indivíduo do medicamento R.

Os métodos a serem descritos a seguir são baseados na razão ou diferença das esperanças definidas anteriormente.

Denominando genericamente M_I como a razão ou diferença das esperanças, a hipótese para avaliar a bioequivalência individual é dada por:

$$H_0 : M_I \geq \Delta_I \text{ vs } H_a : M_I < \Delta_I,$$

onde Δ_I é algum limite de bioequivalência individual pré-fixado.

Embora a avaliação de bioequivalência individual seja formulada por Testes de Hipóteses, na maioria dos métodos ela é verificada através de Intervalo de Confiança.

Como M_I são funções de (1) diferença entre as médias de T e R, (2) interação droga x indivíduo e (3) variabilidade intra-indivíduo para T e R, torna-se necessário considerar a contribuição de cada componente na definição do limite de bioequivalência. Na seção 2.38 será abordado como são calculados estes limites.

2.3.1 Ekbohm e Melander (1989)

Ekbohm e Melander em [17] propõem que a interação tratamento x indivíduo faça parte do critério para avaliar a intercambiabilidade das drogas, porque podemos ter indivíduos respondendo diferentemente aos medicamentos, ou seja, existe interação tratamento x indivíduo.

Critério:

O critério é composto da razão da variância da interação tratamento x indivíduo sob a soma da variância intra-indivíduo de T e R, o qual denomina-se M_{I5} .

$$M_{I5} = \frac{\sigma_D^2}{\sigma_{WT}^2 + \sigma_{WR}^2} \quad (2.21)$$

onde:

$$\sigma_D^2 = \sigma_{BT}^2 + \sigma_{BR}^2 - 2\rho\sigma_{BT}\sigma_{BR}$$

Estimação:

Para estimar o efeito da interação, é necessário que cada droga seja administrada pelo menos duas vezes em cada indivíduo. Pode ser aplicado também um planejamento *crossover* 2 x 2 replicado,

considerando replicação como fator aleatório e ignorando possíveis diferenças entre períodos dentro da replicação.

Considerando o planejamento *crossover* 2x4 para avaliar a metodologia proposta, temos o vetor de variáveis respostas

$$Y'_{ij} = (Y_{ijT1}, Y_{ijT2}, Y_{ijR1}, Y_{ijR2}) \quad i = 1, 2 \quad j = 1, \dots, n_i,$$

e os contrastes ortogonais de Y_{ij} para o indivíduo j na sequência i , $d_{ij} = c_1 Y_{ij}$ e $R_{ij} = c_2 Y_{ij}$, onde $c_1 = (1/2)(1, 1, -1, -1)$ e $c_2 = (1/2)(1, -1, -1, 1)$ $i = 1, 2 \quad j = 1, \dots, n_i$.

Segue que d_{ij} e R_{ij} são variáveis aleatórias independentes e identicamente distribuídas, com variâncias $Var(d_{ij}) = \sigma_D^2 + (1/2)(\sigma_{WT}^2 + \sigma_{WR}^2)$, e $Var(R_{ij}) = (1/2)(\sigma_{WT}^2 + \sigma_{WR}^2)$. Considerando a equação 2.21, sejam:

$$MS(IXF) = [1/(N-2)] \left[\sum_{i=1}^2 \sum_{j=1}^{n_i} (d_{ij} - \bar{d}_i)^2 \right] \quad (2.22)$$

$$MS(med) = [1/(N-2)] \left[\sum_{i=1}^2 \sum_{j=1}^{n_i} (R_{ij} - \bar{R}_i)^2 \right] \quad (2.23)$$

independentes e

$$F_{IF} = MS(IXF)/MS(med) \quad (2.24)$$

onde:

$$\bar{d}_i = (1/n_i) \sum_{j=1}^{n_i} d_{ij} \quad e \quad \bar{R}_i = (1/n_i) \sum_{j=1}^{n_i} R_{ij}$$

F_{IF} é distribuído como $\{[2\sigma_D^2 + (\sigma_{WT}^2 + \sigma_{WR}^2)]/(\sigma_{WT}^2 + \sigma_{WR}^2)\} * F(N-2, N-2)$, onde $F(N-2, N-2)$, corresponde a distribuição F com $(N-2)$ e $(N-2)$ graus de liberdade.

Podemos notar através da equação 2.21, que

$$2M_{I5} + 1 = \{[2\sigma_D^2 + (\sigma_{WT}^2 + \sigma_{WR}^2)]/(\sigma_{WT}^2 + \sigma_{WR}^2)\}$$

ou

$$M_{I5} = (F_{IF} - 1)/2$$

O limite superior de confiança $(1 - \alpha)100\%$ para M_{I5} é dado por:

$$L_{IF} = \{F_{IF} * F(\alpha, N - 2, N - 2) - 1\}/2 \quad (2.25)$$

onde $F(\alpha, N - 2, N - 2)$ corresponde ao α -ésimo quantil superior de uma distribuição F com $(N - 2)$ e $(N - 2)$ graus de liberdade.

Algoritmo

1. Calcule $MS(med)$, $MS(IXF)$ e F_{IF} , conforme descrito em 2.22, 2.23 e 2.24, respectivamente.
2. Concluir BEI com nível de significância α , se $L_{IF} < \Delta_{IF}$ ou $F_{IF} < [2\Delta_{IF} + 1] * F(1 - \alpha, N - 2, N - 2)$,

onde:

Δ_{IF} é o limite superior especificado (corresponde a 0,2 quando $\sigma_D^2=0,02$ e a 0,3 quando $\sigma_D^2=0,03$).

2.3.2 Sheiner (1992)

Sheiner em [48] propõe o critério da equação 2.26 para avaliar bioequivalência baseado no processo biológico que a droga sofre no organismo do paciente. Neste critério, ele considera a razão entre a medida de distância de T e um valor padrão, em relação a distância de R e um valor padrão, e define isto como o risco relativo para a troca do medicamento R para T em um determinado paciente.

Critério:

Seja Y_{jkl} a medida de biodisponibilidade do k - éximo medicamento ($k=T,R$) para o j - éximo indivíduo na l - éxima repetição, e o valor padrão igual a $E(Y_{jRl})$

$$M_{I2} = \frac{E[(Y_{jTl} - E(Y_{jRl}))^2]}{E[(Y_{jRl} - E(Y_{jRl}))^2]} = \frac{[(\mu_T - \mu_R)^2 + \sigma_D^2 + \sigma_{WT}^2]}{\sigma_{WR}^2} \quad (2.26)$$

Estimação:

Para estimar os sete parâmetros da equação 2.26, observando que para estimar a variância da interação são necessários 3 parâmetros, é recomendável um planejamento *crossover* de ordem superior, como por exemplo, *crossover* 2x4, ou um planejamento que contenha pelo menos as seqüências

(TT), (RR) e (T,R). Sheiner mostrou, via simulação, que é necessário uma amostra de tamanho grande para utilizar este critério. Adotando uma amostra de tamanho 40 e considerando $\Delta_{I2} = 1,44$ e 2,25, resultou num poder do teste de 0,16 e 0,62, respectivamente.

Algoritmo

1. Obtenha o estimador de máxima verossimilhança para os parâmetros de 2.26, supondo normalidade para Y_{jkl} ;
2. Obtenha M_{I2} substituindo os parâmetros por seus respectivos estimadores;
3. Calcule L_{M2} , o limite superior com coeficiente de 95% para M_{I2} , como o limite superior do intervalo de confiança de verossimilhança perfilada de 90%;
4. Conclua BEI se $L_{M2} < \Delta_{I2}$.

onde:

Δ_{I2} é o limite superior especificado (corresponde a 3,25 quando $\sigma_D^2=0,02$ e a 3,5 quando $\sigma_D^2=0,03$)

2.3.3 Schall e Luus (1993)

Schall e Luus em [46] propõem comparar a distância esperada de Y_T e Y_R com a distância esperada das duas administrações de R, Y_R e Y'_R , conforme descrito pela equação 2.27.

Critério:

$$\begin{aligned} M_{I1} &= E(Y_T - Y_R)^2 - E(Y_R - Y'_R)^2 \\ &= (\mu_T - \mu_R)^2 + \sigma_D^2 + \sigma_{WT}^2 - \sigma_{WR}^2 \end{aligned} \quad (2.27)$$

Estimação:

Para utilizar este critério, é necessário um planejamento *crossover* de ordem superior, como um *crossover* 2 x 3 ou 2 x 4. O estimador através do método de momentos para o planejamento *crossover* 2 x 4 é dado por:

$$m_{I1} = (1/2) \sum_j (1/n_i) \sum_i (1/4) \sum_{l \neq l'} (Y_{ijTl} - Y_{ijRl'})^2 \quad (2.28)$$

$$- (1/2) \sum_j (1/n_i) \sum_l (Y_{ijR1} - Y_{ijR2})^2$$

Como na maioria dos métodos utilizando critério agregado, a distribuição do critério é extremamente complicada. Assim, Schall e Luus sugerem o método *bootstrap* não-paramétrico para construir o intervalo de confiança, pois é relativamente fácil de implementar e não depende da suposição de alguma distribuição.

A reamostragem *bootstrap* para o planejamento *crossover* 2 x 4 consiste em reamostrar com reposição os n_1 indivíduos da seqüência 1 (TRTR) e os n_2 indivíduos da seqüência 2 (RTRT), totalizando $n_1 + n_2$ indivíduos na amostra *bootstrap*. Para cada amostra *bootstrap* realizada, calcula-se m_{I1} de acordo com 2.28, e após realizar este processo um número X de vezes, os valores de m_{I1} são ordenados de forma decrescente, e o limite superior do intervalo de confiança para método *bootstrap* percentil de coeficiente 95%, corresponde ao quantil de 95% do total de reamostragens realizadas.

Algoritmo

1. Gerar a reamostragem *Bootstrap* estratificada por seqüência;
2. Obter m_{I1} de acordo com equação 2.28;
3. Repetir passos 1 e 2 pelo menos 1000 vezes;
4. Obter L_{M1} , que corresponde ao limite superior com coeficiente de confiança de 95% através do método Bootstrap percentil não-paramétrico;
5. Concluir BEI com nível de significância de 5%, se $L_{M1} < \Delta_{I1}$.

onde:

Δ_{I1} é definido como limite superior especificado (corresponde a 0,09 quando $\sigma_D^2=0,02$ e a 0,10 quando $\sigma_D^2=0,03$).

Caso exista efeito de período, é necessário adaptar a reamostragem *bootstrap* do item 1 da seguinte forma: (1) faça a diferença entre as respostas do período 1 e 4, 2 e 4, 3 e 4 e substitua pelas respostas

dos períodos 1, 2 e 3, respectivamente; (2) a nova amostra é composta pelas 3 variáveis modificadas e pela resposta do período 4, que não é alterada.

2.3.4 Holder e Hsuan (1993)

Holder e Hsuan [26] propuseram um critério semelhante ao de Anderson e Hauck [23], mas que considera o efeito do período e da sequência. É recomendável utilizar um planejamento *crossover* de ordem superior, pois é necessário estimar a componente da interação droga x indivíduo.

Critério:

$$M_{I4} = \theta^2 + \sigma_D^2 \quad (2.29)$$

onde $\theta = (\mu_T - \mu_R)$

O critério proposto por Holder e Hsuan em 2.29, considera somente a diferença entre as médias de T e R e a variância da interação tratamento x indivíduo.

Estimação:

Baseado na suposição de normalidade, são obtidos valores críticos para M_{I4} de acordo com valores especificados de MINP (proporção mínima da população que deve ser bioequivalente) e r ($P\{-r < \mu_{jT} - \mu_{jR} < r\}$), conforme tabela 2.2.

Tabela 2.2: Valores Críticos para M_{I4}

MINP	r		
	$-\ln(0,65)$	$-\ln(0,70)$	$-\ln(0,75)$
0,70	0,1456	0,0998	0,0649
0,75	0,1275	0,0874	0,0569
0,80	0,1083	0,0743	0,0483

Fonte: Holder e Hsuan (1993).

Algoritmo

1. Determine o valor de r e MINP;
2. Obtenha o estimador de M_{I4} substituindo os estimadores de máxima verossimilhança restrita para os parâmetros de 2.29;
3. Conclua BEI, se $M_{I4} < \Delta_{I4}$.

onde: Δ_{I4} é o valor crítico correspondente da tabela 2.2 .

2.3.5 FDA (1997)

O FDA em [52], sugere uma combinação entre o método proposto por Sheiner e por Schall e Luus, e é dado por M_{I3} .

Crítério:

$$\begin{aligned} M_{I3} &= [E(Y_T - Y_R)^2 - E(Y_R - Y'_R)^2] / (1/2)E(Y_R - Y'_R)^2 \\ &= [(\mu_T - \mu_R)^2 + \sigma_D^2 + \sigma_{WT}^2 - \sigma_{WR}^2] / \max(\sigma_{WR}^2, \sigma_{W0}^2) \end{aligned} \quad (2.30)$$

Estimação:

Sob suposição de normalidade para a resposta Y_{ijk} , o modelo proposto considera como efeitos fixos sequência, período e tratamento, e se for utilizado planejamento *crossover* de ordem superior, é recomendável não considerar o efeito *carryover*.

Para a estimação dos parâmetros em 2.30, é sugerido utilizar o método de máxima verossimilhança restrita (MVR).

Algoritmo

1. Calcule o EMVR para σ_{WR}^2 utilizando os dados originais e obtenha M_{I3} como:

$$M_{I3} = \begin{cases} \{(\mu_T - \mu_R)^2 + \sigma_D^2 + \sigma_{WT}^2 - \sigma_{WR}^2\} / \sigma_{WR}^2, & \text{se } \hat{\sigma}_{WR}^2 > 0,04 \\ \{(\mu_T - \mu_R)^2 + \sigma_D^2 + \sigma_{WT}^2 - \sigma_{WR}^2\} / 0,04, & \text{se } \hat{\sigma}_{WR}^2 < 0,04; \end{cases}$$

2. Gerar a reamostragem *Bootstrap* estratificada por sequência;
3. Obtenha estimadores de MVR de 2.30, e calcule M_{I3} ;

4. Repetir os passos 1 e 2 pelo menos 2000 vezes;
5. Obter L_{M3} , que corresponde ao limite superior com coeficiente de confiança de 95% através do método Bootstrap percentil não-paramétrico;
6. Concluir BEI com nível de significância de 5% se $L_{M3} < \Delta_{I3}$.

onde:

Δ_{I3} é o limite superior especificado (corresponde a 2,25 quando $\sigma_D^2=0,02$ e a 2,5 quando $\sigma_D^2=0,03$).

A tabela 2.3 apresenta uma comparação entre o tamanho de amostra necessário para concluir BEI e BEM com Poder do Teste de 90% e 80% , e os valores especificados para o desvio padrão intra-indivíduo de R (σ_{WR}), CV (coeficiente de variação) e para o critério M_{I3} . Pode-se notar que é necessário um tamanho de amostra muito maior para verificar BEM comparado a BEI para Poder do Teste de 90%. Em relação as demais combinações, a maior amostra para verificar BEI foi de 48 indivíduos, enquanto que para BEM são necessários 144 indivíduos.

Tabela 2.3: Tamanho de Amostra para *Crossover 2x4* e *Crossover 2x2*

σ_{WR}	CV	M_{I3}	Poder	BEI	BEM
0,15	15	0,106	80%	12	12
			90%	12	16
0,23	23	0,045	80%	24	24
			90%	32	32
0,30	31	0,026	80%	32	40
			90%	40-48	54
$\geq 0,50$	≥ 53	$\leq 0,0095$	80%	36	≥ 108
			90%	40-48	144

Fonte: FDA(1997)

2.3.6 Critério Desagregado (1998)

O critério desagregado proposto por Liu [37] avalia separadamente cada uma das três componentes: (1) diferença entre as médias de T e R, (2) interação droga x indivíduo e (3) razão da variabilidade intra-indivíduo para T e R para determinar bioequivalência individual. Cada uma das três componentes é avaliada por um Teste de Hipóteses distinto, em que o limite de bioequivalência fornecido é específico para cada uma das componentes, respeitando, assim, as características de cada componente.

Para este tipo de critério temos BEI implica em BEP que por sua vez implica em BEM, e isto só é válido para o critério desagregado.

É recomendável utilizar planejamento *crossover* de ordem superior e calcular os estimadores através do método de MVR.

Critério:

As hipóteses a serem testadas são:

- Média

$$H_{0a} : \mu_T - \mu_R \geq \sqrt{\lambda'_{10}} \quad \text{ou} \quad \mu_T - \mu_R \leq -\sqrt{\lambda'_{10}}$$

vs.

$$H_{aa} : -\sqrt{\lambda'_{10}} < \mu_T - \mu_R < \sqrt{\lambda'_{10}}$$

- Interação tratamento x indivíduo

$$H_{0i} : \sigma_D^2 \geq \lambda'_{20}$$

vs.

$$H_{ai} : \sigma_D^2 < \lambda'_{20}$$

- Variabilidade intra-indivíduo

$$H_{0v} : \sigma_{WT}^2 / \sigma_{WR}^2 \geq \lambda_{30}$$

vs.

$$H_{av} : \sigma_{WT}^2 / \sigma_{WR}^2 < \lambda_{30}$$

onde:

$\lambda'_{10} = \lambda_{10}\sigma_{WR}^2$, $\lambda'_{20} = \lambda_{20}\sigma_{WR}^2$, e λ_{10} , λ_{20} e λ_{30} são os limites superiores especificados.

Estimação:

O intervalo de confiança para $\mu_T - \mu_R$ é dado por:

$$U_a(L_a) = (\bar{Y}_T - \bar{Y}_R) \pm t(\alpha, N - 2) \sqrt{Var(\bar{Y}_T - \bar{Y}_R)} \quad (2.31)$$

onde:

$t(\alpha, N - 2)$ corresponde ao α -ésimo quantil superior da distribuição $t - Student$ com $N - 2$ graus de liberdade.

Sob a suposição de normalidade, o limite superior de confiança $(1-\alpha)\%$ para $\sigma_{WT}^2/\sigma_{WR}^2$ é obtido por:

$$U_v = [\hat{\sigma}_{WT}^2/\hat{\sigma}_{WR}^2]F(\alpha, N - 2, N - 2) \quad (2.32)$$

onde:

$F(\alpha, N - 2, N - 2)$ corresponde ao α -ésimo quantil superior de uma distribuição F com $N - 2$ e $N - 2$ graus de liberdade.

Algoritmo

1. Construa o intervalo de confiança com coeficiente de 95% para $\mu_T - \mu_R$ de acordo com 2.31, e conclua BEM se estiver contido no intervalo $[\ln(0,8), \ln(1,25)]$;
2. Obtenha o limite superior de confiança de 95% para σ_D^2 utilizando EMVR ou L_{IF} conforme equação 2.25. Conclua bioequivalência para interação tratamento x indivíduo se este limite for menor do que 0,03 ou 0,3 para M_{I5} ;
3. Calcule o limite superior de confiança de 95% para $\sigma_{WT}^2/\sigma_{WR}^2$ conforme 2.32, e conclua bioequivalência em variabilidade intra-indivíduo se este limite for menor que 2,25;
4. Conclua BEI com nível de significância α se T e R forem bioequivalentes em média, variabilidade intra-indivíduo e na interação tratamento x indivíduo.

2.3.7 Relação entre os Critérios

Os critérios propostos anteriormente são relacionados entre si ou são funções de outros. Considere a seguinte redefinição de variáveis:

$$\lambda_1 = (\mu_T - \mu_R)^2 / \sigma_{WR}^2 = \theta^2 / \sigma_{WR}^2$$

$$\lambda_2 = \sigma_D^2 / \sigma_{WR}^2 \text{ e}$$

$$\lambda_3 = \sigma_{WT}^2 / \sigma_{WR}^2$$

Os critérios M_{I1} , M_{I2} e M_{I3} , definidos pelas equações 2.27, 2.26 e 2.30, respectivamente, possuem a seguinte relação:

$$M_{I3} = \lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3 - 1$$

$$= M_{I2} - 1$$

$$= M_{I1} / \sigma_{WR}^2$$

Se as variâncias intra-indivíduo de T e R forem iguais, temos que o critério proposto por Schall e Luus é o mesmo que o sugerido por Holder e Hsuan ($M_{I3} = M_{I4}$). E sob suposição de normalidade para a resposta farmacocinética, o resultado utilizando o método baseado em momentos é equivalente ao baseado em probabilidade.

2.3.8 Limites de Bioequivalência

O FDA em [52] propõe que o limite de bioequivalência para M_{I3} seja construído da seguinte forma:

$$M = \frac{\text{Limite de BEM} + \sigma_D^2 + (\sigma_{WT}^2 - \sigma_{WR}^2)}{\text{variância escala}}$$

Utilizando a regra 80/125, temos que o limite de bioequivalência média é $[\ln(1,25)]^2 = 0,04977$. Considerando o modelo misto dois estágios da equação 1.14, temos que a magnitude da variância σ_D^2 está associada com a proporção de indivíduos em que a diferença nas médias específicas $\mu_{jT} - \mu_{jR}$ estão fora do limite de BEM ($\ln 0,8, \ln 1,25$). Por exemplo, se de 10 a 20% das diferenças entre as médias específicas dos indivíduos estão fora deste intervalo de bioequivalência, então σ_D^2 irá variar no intervalo $[0,02-0,03]$.

O FDA sugere utilizar 0,04 para variância escala e 0,02 para diferença entre as variâncias intra-indivíduo de T e R. Assim, o limite de bioequivalência para M_{I3} é dado por:

$$\Delta_{I3} = [(\ln 1,25)^2 + 0,02 + 0,02]/0,04 = 2,2448$$

$$\cong 2,25 \quad \text{para } \sigma_D^2 = 0,02$$

e

$$\Delta_{I3} = [(\ln 1,25)^2 + 0,03 + 0,02]/0,04 = 2,4948$$

$$\cong 2,5 \quad \text{para } \sigma_D^2 = 0,03$$

Utilizando a relação entre os critérios definida na seção anterior, temos que os intervalos de bioequivalência para M_{I1} e M_{I2} são dados por:

$$\Delta_{I1} = \begin{cases} 0,09 & \text{para } \sigma_D^2 = 0,02 \\ 0,10 & \text{para } \sigma_D^2 = 0,03 \end{cases} \quad (2.33)$$

$$\Delta_{I2} = \begin{cases} 3,25 & \text{para } \sigma_D^2 = 0,02 \\ 3,5 & \text{para } \sigma_D^2 = 0,03 \end{cases} \quad (2.34)$$

2.4 Método Baseado em Probabilidade

Para o método baseado em probabilidade, a medida de distância $d(Y_k; Y_{k'})$ para r positivo especificado corresponde a:

$$d(Y_k; Y_{k'}) = \begin{cases} P(|Y_T - Y_R| < r) = P_{TR}, & \text{se } k = T \text{ e } k' = R \\ P(|Y_R - Y_R'| < r) = P_{RR}, & \text{se } k = R \text{ e } k' = R \end{cases}$$

onde $d(Y_T; Y_R)$ mede a distância entre as respostas farmacocinéticas de T e R, e $d(Y_R; Y_{R'})$ mede a distância entre as respostas das administrações repetidas de R. A distância $d(Y_R; Y_{R'})$ serve como controle, pois o medicamento R deve ser bioequivalente com ele mesmo nas repetidas administrações.

A hipótese para avaliar bioequivalência individual é dada por:

$$H_0 : P \leq MINP \text{ vs } H_a : P > MINP$$

onde $MINP$ corresponde a proporção mínima da população em que T e R, que devem ser bioequivalentes.

A seguir são apresentados os principais métodos baseados em probabilidade.

2.4.1 Anderson e Hauck (1990)

Baseado no conceito da regra 75/75, Anderson e Hauck [23], sugerem o Teste da Razão de Equivalência Individual-TIER, P_{TIER} , como forma de avaliar BEI.

Critério:

$$P_{TIER} = P\{-r < \mu_{jT} - \mu_{jR} < r\} \quad (2.35)$$

Este teste requer a especificação, pela agência reguladora, da proporção mínima de indivíduos na população de interesse para qual os dois medicamentos devem ser bioequivalentes (MINP), e é baseado na distribuição binomial.

Estimação:

É aplicado um planejamento *crossover* 2x2, considerando que não há efeito de período ou efeitos residuais diferentes.

As hipóteses a serem testadas são:

$$H_0 : P_{TIER} \leq MINP \text{ vs. } H_a : P_{TIER} > MINP$$

Para teste de hipóteses que utilizam probabilidade binomial, é comum usar a aproximação normal para binomial. Mas, como a amostra utilizada em estudos de BE não é muito grande é recomendado utilizar o teste binomial exato.

Considere Y_{jk} como a medida de biodisponibilidade do k –ésimo medicamento ($k = T, R$) para o j –ésimo indivíduo, e o critério de bioequivalência:

$$-r < Y_{jT} - Y_{jR} < r \quad (2.36)$$

Algoritmo

1. Especifique o valor de r e MINP;
2. Contar o número X de indivíduos que satisfaz o critério da equação 2.36;
3. Encontrar L_{TIER} , que corresponde ao limite inferior de confiança para P_{TIER} com coeficiente $100(1-\alpha)\%$ através da solução de $\alpha = P\{X \text{ ou mais indivíduos bioequivalentes} / P_{TIER} = L_{TIER}\}$;

4. Conclua BEI ao nível de significância α se $L_{TIER} > MINP$.

A tabela 2.4 apresenta o número mínimo de indivíduos para diferentes tamanhos de amostras que devem satisfazer o critério 2.36 para concluir BEI ao nível de significância de 5% e utilizando $MINP=0,75$.

Tabela 2.4: Número Mínimo de Indivíduos para Concluir BEI

Tamanho Amostra	r				L_{TIER}
	$-\ln(0,6667)$	$-\ln(0,75)$	$-\ln(0,80)$	$-\ln(0,90)$	
10	10	-	-	-	0,493
11	11	11	-	-	0,530
12	12	12	-	-	0,473
13	12	13	-	-	0,505
14	13	14	14	-	0,534
15	14	15	15	-	0,560
16	15	16	16	-	0,516
17	15	17	17	-	0,539
18	16	17	18	-	0,561
19	17	18	19	-	0,581
20	18	19	20	-	0,544
21	18	20	21	-	0,563
22	19	21	21	-	0,580
23	20	21	22	-	0,596
24	21	22	23	-	0,565
25	21	23	24	-	0,581
26	22	24	25	-	0,595
27	23	25	26	-	0,608
28	24	26	27	-	0,581
29	24	26	28	29	0,594
30	25	27	28	30	0,606
31	26	28	29	31	0,617
32	27	29	30	32	0,594
33	27	30	31	32	0,605
34	28	30	32	34	0,615
35	29	31	33	35	0,625

Fonte: Anderson e Hauck (1990)

2.4.2 Esinhart e Chinchilli (1994)

Esinhart e Chinchilli [20] sugerem o intervalo de tolerância $L_T(U_T)$ como critério para avaliar BEI, baseado na definição de P_{TR} em 2.35.

O intervalo de tolerância é definido como o intervalo que contem $100\gamma\%$ da diferença intra-indivíduo $Y_{jT} - Y_{jR}$ na população com probabilidade $1-\alpha$, $0 < \alpha < 1$ e $0 < \gamma < 1$. E sua interpretação é similar ao intervalo de confiança.

Suponha que seja repetido o mesmo estudo de BE independentemente B vezes, calcula-se o intervalo de tolerância em cada um deles. Então, pelo menos $(1-\alpha)100\%$ dos B intervalos de tolerância devem cobrir pelo menos 100γ da distribuição de $Y_{jT} - Y_{jR}$.

Critério:

Seja $R = Y_{jT} - Y_{jR}$, o intervalo de tolerância proposto é:

$$L_T(U_T) = \bar{R} \pm CV \quad (2.37)$$

onde:

$\bar{R}$ e V correspondem à média aritmética e desvio padrão de R, respectivamente.

$C = k_1 k_2$ é obtido através das equações 2.38 e 2.39.

$$\Phi(n^{-1/2} + k_1) - \Phi(n^{-1/2} - k_1) = \gamma \quad (2.38)$$

$$k_2 = \sqrt{gl/\chi_{gl;1-\alpha}^2} \quad (2.39)$$

Algoritmo

1. Obtenha o estimador de mínimos quadrados para $\mu_T - \mu_R$ e erro padrão associado;
2. Encontre k_1 resolvendo iterativamente a equação 2.38;
3. Calcule k_2 conforme 2.39, onde gl corresponde aos graus de liberdade associados com V;
4. Obtenha o intervalo de tolerância (L_T, U_T) em 2.37;
5. Conclua BEI, se (L_T, U_P) estiver contido dentro do intervalo $(-r, r)$.

A tabela 2.5 apresenta o número de indivíduos necessário para concluir BEI utilizando o método de Intervalo de Tolerância para $r = 0,2877$. Quando o coeficiente de variação (CV) está próximo de 24%, o tamanho da amostra é maior que 1000 ou não existe, e neste caso, está denotada pelo símbolo -.

Tabela 2.5: Número de Indivíduos Necessário para Concluir BEI

Crossover	$\mu_T - \mu_R$	CV	$\pi = 0,75$		$\pi = 0,80$	
			$\alpha = 0,05$	$\alpha = 0,10$	$\alpha = 0,05$	$\alpha = 0,10$
2x2	ln(0,95)	10	18	13	30	21
		12	50	34	210	135
		14	827	158	-	-
		16	-	-	-	-
	0	10	10	7	13	10
		12	17	12	27	19
		14	36	25	100	66
		16	145	94	-	-
		18	-	-	-	-
2x4	ln(0,95)	10	7	6	9	7
		12	11	8	14	10
		14	17	12	28	19
		16	32	22	80	53
		18	88	58	-	849
		20	-	-	-	-
	0	10	6	5	7	5
		12	7	6	9	7
		14	10	7	13	9
		16	14	10	20	14
		18	21	15	37	26
		20	37	26	108	71
		22	89	59	-	871
		24	491	310	-	-
		26	-	-	-	-

Fonte: Esinhart e Chinchilli (1994).

2.4.3 Schall (1995)

Schall [47] propõe um critério similar ao de Sheiner e ao de Schall e Luus, mas que é mais fácil de ser interpretado. A medida de similaridade entre T e R, definida na equação 2.35, é dada por:

Critério:

$$P_d = d(Y_T; Y_{R'}) - d(Y_R; Y_{R'}) = P_{TR} - P_{RR} \quad (2.40)$$

$$= P(|Y_T - Y_R| < r) - P(|Y_R - Y_{R'}| < r), \quad (2.41)$$

ou

$$P_r = d(Y_T; Y_{R'}) / d(Y_R; Y_{R'}) = P_{TR} / P_{RR} \quad (2.42)$$

$$= P(|Y_T - Y_R| < r) / P(|Y_R - Y_{R'}| < r). \quad (2.43)$$

Estimação:

Para assegurar bioequivalência através deste critério, é necessário planejamento *crossover* de ordem superior, como por exemplo, *crossover* 2x3 ou 2x4. E pode ser verificada através do seguinte teste de hipóteses:

$$H_0 : P_d(P_r) \leq \pi_d(\pi_r) \text{ vs } H_a : P_d(P_r) > \pi_d(\pi_r).$$

Conclui-se BEI se rejeitamos a hipótese nula para algum limite pré-especificado $\pi_d(\pi_r)$. O método proposto é avaliado de duas formas : (1) supondo normalidade para Y_T e Y_R ou (2) não assumindo nenhuma distribuição para Y_T e Y_R . Como o procedimento para avaliação utilizando P_d ou P_r são similares, aqui será utilizado somente P_d .

P_d -Distribuição-free

Algoritmo

1. Gerar reamostragem *bootstrap* estratificada por seqüência;
2. Determinar o valor de r . Schall considera duas situações para o valor de r :

- r é especificado

Utilizar a amostra *bootstrap* para calcular P_{TR} e P_{RR}

$$P_{TR}^* = (1/2) \sum (1/4n_i) \sum \sum I(|y_{ijTl}^* - y_{ijRl'}^*| < r) \quad (2.44)$$

$$P_{RR}^* = (1/2) \sum (1/n_i) \sum I(|y_{ijR1}^* - y_{ijR2}^*| < r) \quad (2.45)$$

onde:

y_{ijkl}^* $k=T,R$ corresponde a amostra *bootstrap*

$$I(.) = \begin{cases} 1, & \text{se } (|y_{ijR1}^* - y_{ijR2}^*| < r) \\ 0, & \text{se } (|y_{ijR1}^* - y_{ijR2}^*| > r) \end{cases}$$

- r é obtido através de $r = c\sqrt{2}\sigma_{WR}$.

A escolha de $c=1$, resulta em um razoável poder, e é necessário utilizar os dados originais para estimar $\sqrt{2}\sigma_{WR}$

$$\sqrt{2}\sigma_{WR} = \{(1/N) \sum \sum (y_{ijR1} - y_{ijR2})^2\}^{1/2} \quad (2.46)$$

$$P_{TR}^* = (1/2) \sum (1/4n_i) \sum \sum I(|y_{ijTl}^* - y_{ijRl'}^*| < c\sqrt{2}\sigma_{WR}) \quad (2.47)$$

$$P_{RR}^* = (1/2) \sum (1/n_i) \sum I(|y_{ijR1}^* - y_{ijR2}^*| < c\sqrt{2}\sigma_{WR}) \quad (2.48)$$

3. Obter $P_d^* = P_{TR}^* - P_{RR}^*$;
4. Repetir 1 e 2 pelo menos 1000 vezes;
5. Calcular o limite inferior de confiança para P_d utilizando o método *bootstrap* percentil;
6. Conclua BEI com nível de significância α se o limite inferior com coeficiente $(1-\alpha)100\%$ for maior que o limite de equivalência especificado.

P_d -Paramétrico

Sob a suposição de normalidade, P_{RR} é constante. Assim, a avaliação de BEI requer somente P_{TR} .

$$P_{TR} = \Phi\{[\theta + c\sqrt{2}\sigma_{WR}]/\sqrt{\sigma_D^2 + \sigma_{WT}^2 + \sigma_{WR}^2}\} \quad (2.49)$$

$$-\Phi\{[\theta - c\sqrt{2}\sigma_{WR}]/\sqrt{\sigma_D^2 + \sigma_{WT}^2 + \sigma_{WR}^2}\},$$

onde: $\theta = \mu_T - \mu_R$.

Algoritmo

1. Determine c em $r = c\sqrt{2}\sigma_{WR}$;
2. Calcule P_{TR} usando os dados originais, como em 2.49, e os estimadores podem ser obtidos através do método de MVR;
3. Gerar reamostragem *bootstrap* estratificada por sequência;
4. Calcule P_{TR}^* usando os dados da amostra *bootstrap*, utilizando 2.49;
5. Repetir 2 e 3 pelo menos 1000 vezes;
6. Calcular o limite inferior de confiança para P_{TR} utilizando o método *bootstrap* percentil;
7. Conclua BEI com nível de significância α se o limite inferior com coeficiente $(1-\alpha)100\%$ for maior que o limite de equivalência MINP especificado.

2.4.4 Liu e Chow (1997)

Liu e Chow [12] propõem dois testes de hipóteses unilaterais para suprir deficiências do Teste TIER, proposto por Anderson e Hauck, pois o teste TIER não pode ser aplicado para planejamento *crossover* de ordem superior e nem sob a presença de efeito de período.

Critério:

As hipóteses a serem testadas podem ser definidas por:

$$H_{0L} : \theta - z(\omega_0)\sqrt{\sigma_D^2 + (1/2)(\sigma_{WT}^2 + \sigma_{WR}^2)} \leq -r$$

vs.

$$H_{aL} : \theta - z(\omega_0)\sqrt{\sigma_D^2 + (1/2)(\sigma_{WT}^2 + \sigma_{WR}^2)} > -r$$

e

$$H_{0U} : \theta - z(\omega_0)\sqrt{\sigma_D^2 + (1/2)(\sigma_{WT}^2 + \sigma_{WR}^2)} \geq r$$

vs.

$$H_{aU} : \theta - z(\omega_0) \sqrt{\sigma_D^2 + (1/2)(\sigma_{WT}^2 + \sigma_{WR}^2)} < r.$$

Estimação:

$$T_L = (\hat{F} - L) / \sqrt{m^2 s_e^2} \quad (2.50)$$

$$T_U = (\hat{F} - U) / \sqrt{m^2 s_e^2} \quad (2.51)$$

onde:

$$\hat{F} = (1/2)[\bar{D}_1. + \bar{D}_2.] \text{ e } \bar{D}_i. = (1/n_i) \sum D_{ij};$$

$$L = -r \text{ e } U = r;$$

$$m^2 = (1/2)[(1/n_1) + (1/n_2)];$$

s_e^2 corresponde ao erro quadrático médio.

Considere os valores de D_{ij} para cada um dos planejamentos:

- *Crossover 2x2* (RT,TR)

$$D_{ij} = Y_{ijT} - Y_{ijR} \quad j = 1, \dots, n_i \quad i = 1, 2.$$

- *Crossover 2x3* (RTT,TRR)

$$D_{ij} = \begin{cases} (1/2)[(Y_{jT12} + Y_{jiT13}) - 2Y_{jRk1}], & \text{se } i = 1; \\ (1/2)[2Y_{jT21} - (Y_{jR22} + Y_{jR23})], & \text{se } i = 2. \end{cases}$$

- *Crossover 2x4* (TRRT,RTTR)

$$D_{ik} = \begin{cases} (1/2)[(Y_{jT11} + Y_{jT14}) - (Y_{jRk2} + Y_{jRk3})], & \text{se } i = 1; \\ (1/2)[(Y_{jT22} + Y_{jT23}) - (Y_{jR21} + Y_{jR24})], & \text{se } i = 2. \end{cases}$$

Algoritmo

1. Determine r e MINP;
2. Obtenha o estimador de mínimos quadrados para diferença; entre as médias de T e R, $\hat{F}$ e o erro quadrático médio;
3. Obtenha o intervalo de confiança utilizando as equações 2.50 e 2.51;
4. Conclua BEI com nível de significância α se $T_L > t(\alpha, NC, n_1 + n_2 - 2)$ e $T_U < -t(\alpha, NC, n_1 + n_2 - 2)$,

onde:

$$NC = [\sqrt{2}z((1 - MINP)/2)]/m;$$

$t(\alpha, NC, n_1 + n_2 - 2)$ corresponde à distribuição t – *Student* com parâmetro de não centralidade NC e $n_1 + n_2 - 2$ graus de liberdade.

A função poder em $\pi_a > \pi$ é dada por:

$$\phi(\pi_a) = P\{T_L > t(\alpha, NC, n_1 + n_2 - 2) \text{ e } T_U < -t(\alpha, NC, n_1 + n_2 - 2)\}$$

E o tamanho de amostra pode ser calculado por:

$$P\{T_L > t(\alpha, NC, n_1 + n_2 - 2)\} = P\{T_U < -t(\alpha, NC, n_1 + n_2 - 2)\} = \alpha$$

A tabela 2.6 apresenta o número de indivíduos necessário para alguns valores de π_a e π com poder do teste de 80 ou 90%, considerando que o número de indivíduos é o mesmo para cada uma das duas seqüências dos planejamentos *crossover*.

Tabela 2.6: Total de Indivíduos para Concluir BEI para Diferentes Planejamentos

Poder	H_0	H_a	<i>Crossover</i>		
			2x2	2x3	2x4
0,8	0,67	0,90	36	28	16
		0,95	20	16	10
	0,75	0,90	70	54	30
		0,95	30	24	20
0,9	0,67	0,90	46	36	20
		0,95	24	18	10
	0,75	0,90	88	78	38
		0,95	38	28	24

Fonte: Liu e Chow (1997)

Tabela 2.7: Resumo dos Critérios Apresentados

Critério	Intervalo de Confiança	Limite BE
$M_{I5} = \sigma_D^2 / (\sigma_{WT}^2 + \sigma_{WR}^2)$	$L_{IF} = \{F_{IF} F(\alpha, N-2, N-2) - 1\} / 2$	0,2 se $\sigma_D^2 = 0,02$ e 0,3 se $\sigma_D^2 = 0,03$
$M_{I2} = (\theta^2 + \sigma_D^2 + \sigma_{WT}^2) / \sigma_{WR}^2$	Bootstrap-Percentil	3,25 se $\sigma_D^2 = 0,02$ e 3,5 se $\sigma_D^2 = 0,03$
$M_{I1} = \theta^2 + \sigma_D^2 + \sigma_{WT}^2 - \sigma_{WR}^2$	Bootstrap-Percentil	0,09 se $\sigma_D^2 = 0,02$ e 0,10 se $\sigma_D^2 = 0,03$
$M_{I4} = \theta^2 + \sigma_D^2$	-	Δ_{I4} da tabela 2.2
$M_{I3} = (\theta^2 + \sigma_D^2 + \sigma_{WT}^2 - \sigma_{WR}^2) / \max(\sigma_{WR}^2, \sigma_{W0}^2)$	Bootstrap-Percentil	2,25 se $\sigma_D^2 = 0,02$ e 2,5 se $\sigma_D^2 = 0,03$
Desagregado $H_{0a} : \mu_T - \mu_R \geq \sqrt{\lambda'_{10}}$ vs. $H_{aa} : -\sqrt{\lambda'_{10}} \leq \mu_T - \mu_R \leq \sqrt{\lambda'_{10}}$ $H_{0i} : \sigma_D^2 \geq \lambda'_{20}$ vs. $H_{ai} : \sigma_D^2 < \lambda'_{20}$ $H_{0v} : \sigma_{WT}^2 / \sigma_{WR}^2 \geq \lambda_{30}$ vs. $H_{av} : \sigma_{WT}^2 / \sigma_{WR}^2 < \lambda_{30}$	$U_a(L_a) = (\bar{Y}_T - \bar{Y}_R) / \sqrt{Var(\bar{Y}_T - \bar{Y}_R)}$ L_{IF} $U_v = [\hat{\sigma}_{WT}^2 / \hat{\sigma}_{WR}^2] F(\alpha, N-2, N-2)$	$[\ln 0,8; \ln 1,25]$ 0,3 2,25
$P_{TIER} = P\{-r < \mu_{iT} - \mu_{iR} < r\}$	L_{TIER}	$MINP$
Intervalo de Tolerância	$L_T(U_T) = \bar{R} \pm CV$	$(-r, r)$
$P_d = P_{TR} - P_{RR}$	Bootstrap-Percentil	π_d
$H_{0L} : \theta - z(\omega_0) \sqrt{\sigma_D^2 + (1/2)(\sigma_{WT}^2 + \sigma_{WR}^2)} \leq -r$ vs. $H_{aL} : \theta - z(\omega_0) \sqrt{\sigma_D^2 + (1/2)(\sigma_{WT}^2 + \sigma_{WR}^2)} > -r$ $H_{0U} : \theta - z(\omega_0) \sqrt{\sigma_D^2 + (1/2)(\sigma_{WT}^2 + \sigma_{WR}^2)} \geq r$ vs. $H_{aU} : \theta - z(\omega_0) \sqrt{\sigma_D^2 + (1/2)(\sigma_{WT}^2 + \sigma_{WR}^2)} < r$	$T_L = (\hat{F} - L) / \sqrt{m^2 s_e^2}$ $T_U = (\hat{F} - U) / \sqrt{m^2 s_e^2}$	$T_L > t(\alpha, NC, n_1 + n_2 - 2)$ e $T_U < -t(\alpha, NC, n_1 + n_2 - 2)$

2.4.5 Poder do Teste e Tamanho de Amostra

Para a maioria dos critérios apresentados, não há uma forma fechada para cálculo do poder do teste. Conseqüentemente, o tamanho da amostra só pode ser obtido através de simulações pelo método de Monte Carlo.

Para a simulação do Poder do Teste fixa-se $\sigma_D^2, \sigma_{WT}^2, \sigma_{WR}^2, \theta^2$ e tamanho da amostra. Enquanto que para tamanho da amostra fixa-se $\sigma_D^2, \sigma_{WT}^2, \sigma_{WR}^2, \theta^2$ e Poder do Teste como 80%.

No capítulo 4 serão abordados procedimentos para cálculo do Poder do Teste para alguns dos métodos apresentados nos capítulos 2 e 3.

Capítulo 3

Estudo de Novas Propostas Alternativas

3.1 Introdução

Como o início de pesquisas para o método de bioequivalência individual é muito recente, existem várias publicações com novas propostas para verificar BEI e que não estão na revisão abordada no capítulo 2. Para seleção destes novos métodos, foram utilizados como critério de escolha propostas que são modificações das já apresentadas e que se mostraram melhores em relação ao poder do teste, tamanho de amostra necessário e dentre as novas propostas as que se mostraram melhores quando comparadas entre si. Assim, a seguir são apresentadas as propostas sugeridas e não implementadas e as quatro novas propostas para assegurar BEI que serão abordadas neste capítulo. Na seção 3.6 apresentamos a comparação entre todos os métodos descritos para três conjuntos de dados com características distintas.

1. Endrenyi (1994)

Endrenyi sugere em [19] um Intervalo de Confiança para a razão das variâncias entre-indivíduo e intra-indivíduo baseado na distribuição F de Snedecor como critério para verificar BEI. Para este método, conclui-se BEI se o limite superior do intervalo de confiança obtido seja menor do que o limite especificado. Este método é bastante restritivo, pois só avalia uma das três características recomendadas para comparação entre os medicamentos T e R.

2. Kimanani (1997) e Hauck (1996)

Kimanani em [32] e Hauck em [25], sugerem um critério agregado baseado em momento com pesos distintos para cada componente. Uma crítica a este método seria como determinar estes pesos e qual a justificativa de atribuir maior importância a uma determinada característica.

3. Quiroz (2002)

Quiroz propõe em [42], um intervalo de confiança alternativo para M_{I3} , descrito na equação 2.30, baseado no método de Grandes Amostras Modificado (GAM). O método GAM foi introduzido por Graybill e Wang em [21] e discutido com detalhes por Graybill e Burdick em [22]. Quiroz demonstrou que seu método é mais poderoso que o método sugerido por Hyslop somente para assegurar BEP.

4. Carrasco (2003)

Carrasco em [7], introduz o conceito de modelo de equações estruturais para avaliar BEI. Os parâmetros são estimados utilizando a função de verossimilhança parcial, e as hipóteses são avaliadas utilizando o critério desagregado. A grande desvantagem deste método é que são necessários de 50-100 indivíduos para resultar em um Poder do teste razoável.

5. Hsuan e Reeve (2003)

Hsuan e Reeve em [29], generalizaram o método apresentado por Hyslop para outros tipos de planejamento, como planejamento de Ballam's, *crossover* 2x3 e *crossover* 3x4 com três tratamentos distintos.

A seguir serão apresentados os quatro estudos de BEI que iremos considerar neste capítulo.

3.2 Brown e Iyer (1997)

O método sugerido por Brown, Iyer e Wang [5] é baseado no Intervalo de Tolerância, semelhante ao método proposto por Esinhart e Chinchilli [20]. Entretanto, este novo método inclui a interação entre tratamento e indivíduo.

O Intervalo de tolerância é definido como o intervalo que contém $100\gamma\%$ da diferença intra-indivíduo $Y_{jT} - Y_{jR}$ na população com probabilidade $1-\alpha$, $0 < \alpha < 1$ e $0 < \gamma < 1$. Sua interpretação é similar ao intervalo de confiança, isto é, suponha que repetimos o mesmo estudo de BE independentemente B vezes, e calculamos o intervalo de tolerância em cada um deles. Então pelo menos $(1-\alpha)100\%$ dos B intervalos de tolerância devem cobrir pelo menos 100γ da distribuição de $Y_{jT} - Y_{jR}$.

Considere o modelo estatístico para *crossover* 2x4 dado pela equação 1.6 com a inclusão do efeito fixo para interação droga x indivíduo $-(SF)_{ijk}$.

$$Y_{ijm} = \mu + G_i + S_{ij} + P_m + F_{i,m} + (SF)_{ijk} + \varepsilon_{ijm} \quad (3.1)$$

onde:

$$j = 1, \dots, n_i, \quad m = 1, \dots, 4, \quad i = 1, 2 \text{ e } k = R, T$$

Assim, como no modelo anterior, assumi-se que S_{ij} são *i.i.d* com distribuição Normal com média 0 e variância σ_s^2 , ε_{ijm} também são *i.i.d* com distribuição Normal com média 0 e variância σ_e^2 e $(SF)_{ijk}$ tem distribuição Normal com média 0 e variância $\sigma_D^2/2$.

Neste modelo foi excluído o efeito *carryover*, pois é possível eliminá-lo com um período *washout* adequado. Caso este efeito esteja presente, o planejamento *crossover* não é apropriado.

Para avaliar a distância entre as respostas dos medicamentos T e R, é utilizado o valor esperado para a diferença entre a resposta de T e R de cada indivíduo. Ou seja, δ_{jm} = resposta esperada para indivíduo ij para o medicamento T durante o período m menos a resposta esperada para indivíduo ij para o medicamento R durante o período m . Assim, tem-se:

$$\delta_{jm} = \mu_T - \mu_R + (SF)_{ijT} - (SF)_{ijR}$$

Note que δ_{jm} tem distribuição Normal com média $\theta = \mu_T - \mu_R$ e variância σ_D^2 . Se não existir a interação indivíduo x droga, $\sigma_D^2 = 0$, então a distribuição de δ_{jm} é degenerada, ou seja, $\delta_{jm} = \mu_T - \mu_R$ para cada um dos indivíduos. Neste caso, o método de BEI é análogo ao de BEM. Entretanto, se $\sigma_D^2 \neq 0$, pode-se utilizar o Intervalo de Tolerância para distribuição de δ_{jm} para assegurar BEI.

A construção deste Intervalo de Tolerância é apropriada somente no caso em que as variâncias intra-indivíduo são iguais. No caso de serem diferentes, é recomendável utilizar outro método para determinar BEI ou utilizar a extensão do Intervalo de Tolerância.

Brown apresenta em [5] e [6], metodologia para construção de Intervalo de Tolerância para 5 diferentes tipos de planejamento crossover. Porém, aqui será abordado somente o *crossover* 2x4.

O método proposto para cálculo do intervalo de tolerância para o modelo com efeitos mistos é baseado no artigo de Wang e Iyer [56]. Neste artigo eles desenvolveram o intervalo de tolerância para distribuição normal com média θ e variância $\sigma^2 = \sigma_T^2 - \sigma_R^2$. Brown et al. adaptaram para distribuição normal com mesma média e variância σ_D^2 .

Devido a recomendação da ANVISA e FDA de utilizar a transformação logarítmica nos dados, calculamos o intervalo de tolerância para os dados transformados e utilizamos a transformação exponencial para obter o intervalo na escala original. De forma que, na escala original o intervalo de tolerância obtido é para razão das respostas individuais esperadas de T e R, sendo de interpretação mais fácil que a diferença.

O limite de bioequivalência deste método é baseado na regra 75/75. Apesar desta regra apresentar vários problemas e ser pouco utilizada, Westlake [58] sugere que seu uso assegura o Intervalo de Tolerância como uma forma apropriada para utilização em adição ao Intervalo de Confiança. O limite de bioequivalência, utilizando $\gamma = 0,75$, é definido pelo intervalo $(0,75; 1,25)$ ou $(0,75; 1,33)$, que é simétrico sob zero na escala logarítmica.

3.2.1 Critério:

O intervalo de tolerância com coeficiente de confiança α e γ é definido por:

$$\hat{\theta} \pm \max \left\{ \hat{k} \sqrt{\max(0, S_T^2 - S_R^2 F_{\eta; \nu_1, \nu_2})}, t_{(1+\alpha)/2; \nu_{12}} S_{TR} / \sqrt{n} \right\} \quad (3.2)$$

onde:

$$\hat{k} = z_{(1+\gamma)/2} \sqrt{\left[\frac{D(n\hat{\phi} + 1)}{n\chi_{1-\alpha, D}^2(1 - (1 - \hat{\phi})F_{\eta; \nu_1, \nu_2})} \right]}, \quad (3.3)$$

$$\hat{\phi} = \max \left\{ 0, \frac{S_T^2 - S_R^2 F_{\eta; \nu_1, \nu_2}}{S_T^2} \right\}, \quad (3.4)$$

$$D = \frac{(1 - (1 - \hat{\phi})F_{\eta; \nu_1, \nu_2})^2}{\frac{1}{\nu_1} + \frac{(1 - \hat{\phi}^2)F_{\eta; \nu_1, \nu_2}^2}{\nu_2}}, \quad (3.5)$$

$$S_{TR}^2 = \frac{\nu_1 S_T^2 + \nu_2 S_R^2}{\nu_{12}}, \quad (3.6)$$

com $\eta = (1 - \alpha)/3$, $\nu_{12} = \nu_1 + \nu_2$ e $F_{\eta; \nu_1, \nu_2}$ corresponde ao η -ésimo percentil da distribuição F com ν_1 e ν_2 graus de liberdade, $z_{(1+\gamma)/2}$ ao $(1 + \gamma)/2$ -ésimo percentil da distribuição Normal Padrão, $\chi_{1-\alpha, D}^2$ ao $(1 - \alpha)$ -ésimo percentil da distribuição Qui-quadrado com D graus de liberdade e, finalmente, $t_{(1+\alpha)/2; \nu_{12}}$ corresponde à distribuição t -Student com nível de significância $(1 + \alpha)/2$ e ν_{12} graus de liberdade.

3.2.2 Estimação:

A seguir definimos contrastes para estimação das variâncias para dois planejamentos *crossover* 2x4 em que a ordem de administração de T e R são diferentes.

Os estimadores de θ , σ_T^2 , σ_R^2 são definidos por $\hat{\theta}$, S_T^2 , S_R^2 tal que $\hat{\theta}$ tem distribuição Normal $(\theta, \sigma_T^2/n)$, $(\nu_1 S_T^2)/\sigma_T^2$ e $(\nu_2 S_R^2)/\sigma_R^2$ tem distribuição qui-quadrado com ν_1 e ν_2 graus de liberdade. Supomos ainda que $\sigma_T^2 > \sigma_R^2$ e que $\hat{\theta}$, S_T^2 e S_R^2 são mutuamente independentes.

Considere o planejamento *crossover* 2x4 com as seguintes ordens de administração e seus respectivos contrastes:

(TRRT e RTTR)

$$u_{ij} = Y_{ij1} - Y_{ij4}, \quad (3.7)$$

$$v_{ij} = Y_{ij2} - Y_{ij3}, \quad (3.8)$$

$$w_{ij} = 0,5(Y_{ij1} + Y_{ij4}) - 0,5(Y_{ij2} + Y_{ij3}). \quad (3.9)$$

(TRTR e RTTR)

$$u_{ij} = Y_{ij1} - Y_{ij3}, \quad (3.10)$$

$$v_{ij} = Y_{ij2} - Y_{ij4}, \quad (3.11)$$

$$w_{ij} = 0,5(Y_{ij1} + Y_{ij3}) - 0,5(Y_{ij2} + Y_{ij4}). \quad (3.12)$$

Os estimadores (ENVUMV) para σ_T^2 e σ_R^2 , conforme demonstrado por Brown em [6], são dados por:

$$S_T^2 = \frac{\sum_{i=1}^2 \sum_{j=1}^{n_i} (w_{ij} - \bar{w}_{i.})^2}{n_1 + n_2 - 2}, \quad (3.13)$$

$$S_R^2 = \frac{\sum_{i=1}^2 \sum_{j=1}^{n_i} [(u_{ij} - \bar{u}_{..})^2 + (v_{ij} - \bar{v}_{..})^2]}{4(n_1 + n_2 - 1)}. \quad (3.14)$$

Definimos o estimador para θ como $\hat{\theta} = 0,5(\bar{w}_{1.} - \bar{w}_{2.})$ com distribuição Normal $(\theta, \sigma_T^2/n)$ onde $\sigma_T^2 = \sigma_D^2 + \sigma_e^2$, $\sigma_R^2 = \sigma_e^2$, $\nu_1 = (n_1 + n_2 - 2)$, $\nu_2 = 2(n_1 + n_2 - 1)$ e $n = 4n_1n_2/(n_1 + n_2)$.

3.2.3 Algoritmo

1. Especifique o valor de γ e α ;
2. Calcule os contrastes nas equações em 3.7, 3.8 e 3.9 ou em 3.10, 3.11 e 3.12, de acordo com o planejamento;
3. Obtenha os estimadores para variância de T e R, de acordo com as equações em 3.13 e 3.14 e a variância combinada em 3.6;
4. Calcule estimativas para os componentes do intervalo de tolerância, de acordo com as equações 3.3, 3.4 e 3.5;
5. Obtenha o Intervalo de Tolerância com coeficiente de confiança γ e índice α em 3.2, substituindo pelas estimativas obtidas nos itens anteriores;

6. Conclua BEI se a exponencial do intervalo de tolerância estiver no intervalo (0,75; 1,25).

Os estimadores para os componentes da variância são obtidos através do método de momentos, e supõe que S_T^2 e S_R^2 possuem distribuição Qui-quadrado. Além disso, não é possível obter estimativas utilizando os métodos de máxima verossimilhança (MV) e máxima verossimilhança restrita (MVR) para construção do intervalo de tolerância devido ao desconhecimento da distribuição quando a amostra é pequena.

A tabela 3.1 apresenta o Poder do Teste para diferentes tipos de planejamento *crossover*, fixando o tamanho da amostra em 24 e 36 indivíduos, os parâmetros σ_e , σ_D e θ variando entre 0 e 0,15. Note que, para o *crossover* 2x4, o poder do teste está abaixo do nível recomendado de 80% para os cenários 6, 9, 10, 11 e 12 com 24 indivíduos e 12 com 36 indivíduos. Isto é devido ao fator diferença nas médias de T e R para o cenário 6, e nos demais casos a este fator adicionado a influência quando $\sigma_e = 0,15$. Em todos os casos a interação indivíduo x droga exerce pouca influência, pois os valores especificados para sua variância são muito baixos.

Embora Brown et al, tenha proposto o intervalo de tolerância baseado na suposição de igualdade de variância intra-indivíduo $\varepsilon_{ijm} \sim N(0, \sigma_e^2)$ com $\sigma_{WT}^2 = \sigma_{WR}^2 = \sigma_e^2$, uma extensão do método pode ser aplicada quando $\varepsilon_{ijm} \sim N(0, \sigma_{Wk}^2)$ com $k = R, T$.

Tabela 3.1: Poder do teste para Diferentes Planejamentos

Cenário	σ_e	σ_D	$\mu_T - \mu_R$	Crossover 2x3		Crossover 2x4		Crossover 4x4	
				n=24	n=36	n=24	n=36	n=24	n=36
1	0,10	0	0	99,9	100	100	100	100	100
2	0,10	0	0,05	98,5	99,9	99,9	100	99,9	100
3	0,10	0	0,10	85,6	96,3	98,1	99,9	97,6	99,9
4	0,10	0,07	0	97,9	99,8	99,8	99,9	99,6	100
5	0,10	0,07	0,05	88,8	97,5	97,2	99,8	96,6	99,8
6	0,10	0,07	0,10	60,2	77,6	77,8	91,9	75,7	91,5
7	0,15	0	0	80,0	95,3	97,3	99,9	97,0	99,9
8	0,15	0	0,05	66,9	85,1	89,9	98,2	88,8	98,8
9	0,15	0	0,10	42,0	66,9	65,1	84,1	65,7	83,8
10	0,15	0,07	0	64,9	86,5	88,9	98,4	87,4	98,2
11	0,15	0,07	0,05	53,0	71,5	75,5	90,8	72,6	90,0
12	0,15	0,07	0,10	29,0	40,8	45,3	62,1	44,9	60,8

Fonte: Brown et al.(1997)

3.3 Hyslop et al.(2000)

Hyslop et. al propõem em [30] a construção de um Intervalo de Confiança alternativo ao Bootstrap-Percentil, anteriormente recomendado pelo FDA. Este Intervalo de Confiança é construído para o critério proposto pelo FDA na equação 2.30, M_{I3} , porém, linearizado. Este novo método é de fácil implementação e requer pouco esforço computacional, ao contrário do Bootstrap-Percentil e, além disso, apresenta bom Poder do Teste. Por estas razões, em 2001 o FDA [53] passou a recomendá-lo em substituição ao M_{I3} .

O Intervalo de confiança é baseado na proposta de Howe [27] de intervalo de confiança para soma de duas variáveis aleatórias independentes com distribuições conhecidas, e foi generalizado para combinações lineares dos componentes da variância por Graybill e Wang [21], Burdick e Graybill [22] e Ting et al.[50]. Portanto, o Intervalo de confiança alternativo é uma generalização do procedimento proposto por Howe para combinações lineares de variáveis aleatórias independentes e arbitrárias.

Considere o modelo estatístico proposto por Chinchilli e Esinhart [10], e descrito no capítulo anterior seção 2.2:

$$Y_{ijkl} = \mu_k + \gamma_{ikl} + \delta_{ijk} + \varepsilon_{ijkl} \quad (3.15)$$

com:

$$i = 1, \dots, s, \quad j = 1, \dots, n_i, \quad k = T, R \text{ e } l = 1, \dots, r$$

e μ_k e γ_{ikl} são os efeitos fixos para tratamento e replicação, δ_{ijk} corresponde ao efeito aleatório do indivíduo e ε_{ijkl} ao erro aleatório. Assumimos que,

$$\begin{aligned} \varepsilon_{ijkl} \text{ são i.i.d. } &\sim N(0, \sigma_{Wk}^2) \\ \delta_{ij} = [\delta_{ijT}, \delta_{ijR}]' &\sim N_2 \left(0, \begin{pmatrix} \sigma_{BT}^2 & \rho\sigma_{BT}\sigma_{BR} \\ \rho\sigma_{BT}\sigma_{BR} & \sigma_{BR}^2 \end{pmatrix} \right) \end{aligned}$$

Para identificabilidade do modelo também supomos que a soma dos efeitos que representam a interação sequência x período dentro de cada tratamento deve ser zero, i.e,

$$\sum_{i=1}^s \sum_{l=1}^r \gamma_{ikl} = 0 \quad \text{para } k = T, R$$

Aplicando estas suposições no *crossover* 2x4, temos que o vetor de respostas da medida farmacocinética $Y_{ij} = [Y_{ijT1} \ Y_{ijT2} \ Y_{ijR1} \ Y_{ijR2}]$ tem média $X_i\beta$ e variância dada por:

$$Var(Y_{ij}) = \Sigma_i = \begin{bmatrix} \sigma_{BT}^2 J_{2 \times 2} + \sigma_{WT}^2 I_{2 \times 2} & \sigma_{TR}^2 J_{2 \times 2} \\ \sigma_{TR}^2 J_{2 \times 2} & \sigma_{BR}^2 J_{2 \times 2} + \sigma_{WR}^2 I_{2 \times 2} \end{bmatrix},$$

onde:

$\beta_{8 \times 1}$ é o vetor de efeitos fixos;

X_i a matriz de planejamento de dimensão 4×8 ;

$J_{2 \times 2}$ é matriz de 1's com dimensão 2×2 ;

$I_{2 \times 2}$ é matriz identidade com dimensão 2×2 ;

$\sigma_{TR}^2 = \rho \sigma_{BT} \sigma_{BR}$.

Considerando agora o vetor de variáveis $\bar{Y}_{ij} = [\bar{Y}_{ijT}, \bar{Y}_{ijR}]$ com média e variância dadas por:

$$E(\bar{Y}_{ij}) = \begin{bmatrix} \mu_T + \bar{\gamma}_{iT} \\ \mu_R + \bar{\gamma}_{iR} \end{bmatrix} \quad (3.16)$$

$$Var(\bar{Y}_{ij}) = \begin{bmatrix} \sigma_{BT}^2 + 1/2\sigma_{WT}^2 & \sigma_{TR}^2 \\ \sigma_{TR}^2 & \sigma_{BR}^2 + 1/2\sigma_{WR}^2 \end{bmatrix} \quad (3.17)$$

onde: $\bar{\gamma}_{ik}$, corresponde a média de γ_{ikl} para $k = R, T$.

3.3.1 Critério:

Podemos reescrever a equação 2.30 como uma combinação linear dos parâmetros:

$$\eta_1 = \delta^2 + \sigma_D^2 + (\sigma_{WT}^2 - \sigma_{WR}^2) - \theta_I \sigma_{WR}^2 < 0 \quad \text{para } \sigma_{WR} > \sigma_{W0} \quad (3.18)$$

$$\eta_2 = \delta^2 + \sigma_D^2 + (\sigma_{WT}^2 - \sigma_{WR}^2) - \theta_I \sigma_{W0}^2 < 0 \quad \text{para } \sigma_{WR} \leq \sigma_{W0} \quad (3.19)$$

onde: $\delta = (\mu_T - \mu_R)$

Para verificar BEI utilizando o critério acima, especificamos σ_{W0} e o limite de bioequivalência fixado pela agência reguladora, θ_I . Conclui-se BEI se o limite superior de confiança de 95% para η_1 ou η_2 é menor do que zero.

3.3.2 Estimação:

Como os parâmetros das equações 3.18 ou 3.19 são desconhecidos é necessário obter seus respectivos estimadores.

A- Estimação da diferença entre as médias dos medicamentos T e R

Definimos a v.a. I_{ij} como a diferença entre a média da replicação dos medicamentos T e R para cada indivíduo, da seguinte forma:

$$I_{ij} = \bar{Y}_{ijT} - \bar{Y}_{ijR}. \quad (3.20)$$

onde:

$$i = 1, \dots, s \quad j = 1, \dots, n_i$$

$$\bar{Y}_{ijT} = 1/2 \sum_{l=1}^2 Y_{ijTl} \quad \text{e} \quad \bar{Y}_{ijR} = 1/2 \sum_{l=1}^2 Y_{ijRl}.$$

A distribuição da v.a. I_{ij} é verificada utilizando a definição da variável I_{ij} na equação 3.20, e os resultados para $\bar{Y}_{ij}$ nas equações 3.16 e 3.17. As variáveis I_{ij} são i.i.d. com média e variância dadas por:

$$E(I_{ij}) = E(\bar{Y}_{ijT} - \bar{Y}_{ijR}) = (\mu_T + \bar{\gamma}_{iT}) - (\mu_R + \bar{\gamma}_{iR}) = \mu_{iT} - \mu_{iR} = \delta \quad (3.21)$$

$$\begin{aligned} Var(I_{ij}) &= Var(\bar{Y}_{ijT} - \bar{Y}_{ijR}) = Var(\bar{Y}_{ijT}) + Var(\bar{Y}_{ijR}) - 2Cov(\bar{Y}_{ijT}, \bar{Y}_{ijR}) \\ &= \sigma_{BT}^2 + 1/2\sigma_{WT}^2 + \sigma_{BR}^2 + 1/2\sigma_{WR}^2 - 2\rho\sigma_{BT}\sigma_{BR} \\ &= \sigma_D^2 + 1/2(\sigma_{WT}^2 + \sigma_{WR}^2) = \sigma_I^2, \end{aligned} \quad (3.22)$$

e como $Y_{ij} \sim N(X_i\beta, \Sigma_i)$, onde $\beta_{8 \times 1}$ é o vetor de efeitos fixos e X_i a matriz de planejamento de dimensão 4×8 , I_{ij} são i.i.d. $\sim N(\delta, \sigma_I^2)$.

A seguir, estudaremos os EMV para os parâmetros envolvidos nas equações 3.21 e 3.22 acima.

O estimador de máxima verossimilhança para δ , parâmetro de locação da distribuição normal é dado por:

$$\hat{\delta} = \hat{\mu}_T - \hat{\mu}_R, \quad (3.23)$$

onde

$$\hat{\mu}_k = \frac{1}{s} \sum_{i=1}^s \bar{Y}_{i.k} \quad k = R, T.$$

As propriedades do estimador da equação 3.23 são:

O estimador é não viciado e, como é função da estatística suficiente e completa para I_{ij} , então, pelo Teorema de Lehmann-Scheffé, este estimador é o de mínima variância (ENVUMV) para δ .

$$\begin{aligned}
E(\hat{\delta}) &= E(\hat{\mu}_T - \hat{\mu}_R) \\
&= E\left(\frac{1}{s} \sum_{i=1}^s \bar{Y}_{i.T.}\right) - E\left(\frac{1}{s} \sum_{i=1}^s \bar{Y}_{i.R.}\right) \\
&= E\left(\frac{1}{s} \sum_{i=1}^s \frac{1}{n_i} \sum_{j=1}^{n_i} \bar{Y}_{ij.T.}\right) - E\left(\frac{1}{s} \sum_{i=1}^s \frac{1}{n_i} \sum_{j=1}^{n_i} \bar{Y}_{ij.R.}\right) \\
&= \sum_{i=1}^s \sum_{j=1}^{n_i} \frac{1}{sn_i} E(\bar{Y}_{ij.T.}) - \sum_{i=1}^s \sum_{j=1}^{n_i} \frac{1}{sn_i} E(\bar{Y}_{ij.R.}) \\
&= E(\bar{Y}_{ij.T.}) - E(\bar{Y}_{ij.R.}) = \mu_{ij.T.} - \mu_{ij.R.} = \delta
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
Var(\hat{\delta}) &= Var(\hat{\mu}_T - \hat{\mu}_R) \\
&= Var\left(\frac{1}{s} \sum_{i=1}^s \bar{Y}_{i.T.} - \frac{1}{s} \sum_{i=1}^s \bar{Y}_{i.R.}\right) = \frac{1}{s^2} \sum_{i=1}^s Var(\bar{Y}_{i.T.} - \bar{Y}_{i.R.}) \\
&= \frac{1}{s^2} \sum_{i=1}^s Var\left(\frac{1}{n_i} \sum_{j=1}^{n_i} \bar{Y}_{ij.T.} - \frac{1}{n_i} \sum_{j=1}^{n_i} \bar{Y}_{ij.R.}\right) = \frac{1}{s^2} \sum_{i=1}^s \frac{1}{n_i^2} \sum_{j=1}^{n_i} Var(\bar{Y}_{ij.T.} - \bar{Y}_{ij.R.}) \\
&= \frac{1}{s^2} \sum_{i=1}^s \frac{1}{n_i^2} \sum_{j=1}^{n_i} Var(I_{ij}) = \frac{1}{s^2} \sum_{i=1}^s \frac{1}{n_i^2} (n_i \sigma_I^2) \\
&= \frac{1}{s^2} \sum_{i=1}^s \frac{1}{n_i} \sigma_I^2 = \sigma_\delta^2.
\end{aligned}$$

Para o *crossover* 2x4 temos:

$$Var(\hat{\delta}) = \frac{1}{4} \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right) \sigma_I^2. \quad (3.24)$$

Assim, o estimador $\hat{\delta}$ possui distribuição normal com média δ e variância σ_δ^2 .

O estimador de máxima verossimilhança para σ_I^2 é dado por:

$$M_I = \hat{\sigma}_I^2 = \frac{1}{n_I} \sum_{i=1}^s \sum_{j=1}^{n_i} (I_{ij} - \bar{I}_i)^2, \quad (3.25)$$

onde:

$$n_T = n_R = n_I = \left(\sum_{i=1}^s n_i \right) - s.$$

As propriedades do estimador da equação 3.25 são:

O estimador da equação 3.25 é não viciado, i.e.,

$$E(\widehat{\sigma}_I^2) = E\left(\frac{1}{n_I} \sum_{i=1}^s \sum_{j=1}^{n_i} (I_{ij} - \bar{I}_i)^2\right) = \frac{1}{n_I} E\left(\sum_{i=1}^s \sum_{j=1}^{n_i} (I_{ij} - \bar{I}_i)^2\right).$$

Considerando *crossover* 2x4, temos:

$$\begin{aligned} &= \frac{1}{n_I} E\left(\sum_{j=1}^{n_1} (I_{1j} - \bar{I}_1)^2 + \sum_{j=1}^{n_2} (I_{2j} - \bar{I}_2)^2\right) \\ &= \frac{1}{n_I} E\left(\sum_{j=1}^{n_1} (I_{1j} - \bar{I}_1)^2\right) + E\left(\sum_{j=1}^{n_2} (I_{2j} - \bar{I}_2)^2\right) \\ &= \frac{1}{n_I} [E\left(\sum_{j=1}^{n_1} I_{1j}^2 - n_1 \bar{I}_1^2\right) + E\left(\sum_{j=1}^{n_2} I_{2j}^2 - n_2 \bar{I}_2^2\right)] \\ &= \frac{1}{n_I} \left[n_1(\sigma_I^2 + \delta^2) - n_1 \left(\frac{\sigma_I^2}{n_1} + \delta^2 \right) + n_2(\sigma_I^2 + \delta^2) - n_2 \left(\frac{\sigma_I^2}{n_2} + \delta^2 \right) \right] \\ &= \frac{1}{n_I} (n_1 \sigma_I^2 - \sigma_I^2 + n_2 \sigma_I^2 - \sigma_I^2) \\ &= \frac{1}{(n_1 + n_2 - 2)} \sigma_I^2 (n_1 + n_2 - 2) = \sigma_I^2. \end{aligned}$$

Da suposição de normalidade para I_{ij} , temos que $\frac{n_I \widehat{\sigma}_I^2}{\sigma_I^2} \sim \chi_{n_I}^2$ ou $\widehat{\sigma}_I^2 \sim \frac{\sigma_I^2 \chi_{n_I}^2}{n_I}$.

B- Estimação para a variabilidade intra-indivíduo dos medicamentos T e R

Para estimar os parâmetros σ_{WT}^2 e σ_{WR}^2 , considere as seguintes variáveis aleatórias:

$$T_{ij} = Y_{ijT1} - Y_{ijT2} \quad (3.26)$$

$$R_{ij} = Y_{ijR1} - Y_{ijR2} \quad (3.27)$$

As variáveis T_{ij} e R_{ij} correspondem a diferença entre as duas administrações de T e R para cada indivíduo, respectivamente.

Para estimar os componentes da variância intra-indivíduo σ_{WT}^2 e σ_{WR}^2 é necessário utilizar transformação de variáveis utilizando contrastes ortogonais. Para o planejamento *crossover* com quatro períodos existem formas fechadas para os estimadores de MV e MVR. Assim, os estimadores são dados por:

$$\hat{\sigma}_{WT,MV}^2 = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^s \sum_{j=1}^{n_i} (Y_{ijT}^* - \bar{Y}_{i.T}^*)^2, \quad (3.28)$$

$$\hat{\sigma}_{WR,MV}^2 = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^s \sum_{j=1}^{n_i} (Y_{ijR}^* - \bar{Y}_{i.R}^*)^2, \quad (3.29)$$

$$\hat{\sigma}_{WT,MVR}^2 = \frac{1}{(n-s)} \sum_{i=1}^s \sum_{j=1}^{n_i} (Y_{ijT}^* - \bar{Y}_{i.T}^*)^2, \quad (3.30)$$

$$\hat{\sigma}_{WR,MVR}^2 = \frac{1}{(n-s)} \sum_{i=1}^s \sum_{j=1}^{n_i} (Y_{ijR}^* - \bar{Y}_{i.R}^*)^2. \quad (3.31)$$

onde $n = n_1 + n_2$ e s é o número de seqüências.

Considerando como contrastes ortogonais T_{ij} para Y_{ijT}^* e R_{ij} para Y_{ijR}^* , definidos pelas equações 3.26 e 3.27, obtemos:

$$\hat{\sigma}_{WT,MV}^2 = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^s \sum_{j=1}^{n_i} (T_{ij} - \bar{T}_{i.})^2, \quad (3.32)$$

$$\hat{\sigma}_{WR,MV}^2 = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^s \sum_{j=1}^{n_i} (R_{ij} - \bar{R}_{i.})^2, \quad (3.33)$$

$$\hat{\sigma}_{WT,MVR}^2 = \frac{1}{(n-s)} \sum_{i=1}^s \sum_{j=1}^{n_i} (T_{ij} - \bar{T}_{i.})^2, \quad (3.34)$$

$$\hat{\sigma}_{WR,MVR}^2 = \frac{1}{(n-s)} \sum_{i=1}^s \sum_{j=1}^{n_i} (R_{ij} - \bar{R}_{i.})^2. \quad (3.35)$$

Sob a suposição de normalidade $T_{ij} \sim N(\nu_{iT}, 2\sigma_{WT}^2)$. Pode-se verificar a seguir que o estimador de máxima verossimilhança restrita (EMVR) para σ_{WT}^2 dado pela equação 3.34 é viciado.

$$\begin{aligned} E(\hat{\sigma}_{WT,MVR}^2) &= E\left(\frac{1}{(n-s)} \sum_{i=1}^s \sum_{j=1}^{n_i} (T_{ij} - \bar{T}_{i.})^2\right) \\ &= \frac{1}{(n-s)} \sum_{i=1}^s \sum_{j=1}^{n_i} E(T_{ij} - \bar{T}_{i.})^2, \end{aligned}$$

aplicando para o caso *crossover* 2x4:

$$= \frac{1}{(n-2)} E\left[\sum_{j=1}^{n_1} (T_{1j} - \bar{T}_{1.})^2 + \sum_{j=1}^{n_2} (T_{2j} - \bar{T}_{2.})^2\right]$$

$$\begin{aligned}
&= \frac{1}{(n-2)} E\left(\sum_{j=1}^{n_1} (T_{1j} - \bar{T}_1)^2\right) + E\left(\sum_{j=1}^{n_2} (T_{2j} - \bar{T}_2)^2\right) \\
&= \frac{1}{(n-2)} E\left(\sum_{j=1}^{n_1} T_{1j}^2 - n_1 \bar{T}_1^2\right) + E\left(\sum_{j=1}^{n_2} T_{2j}^2 - n_2 \bar{T}_2^2\right) \\
&= \frac{1}{n-2} \left[n_1(2\sigma_{WT}^2 + \nu_{1T}) - n_1 \left(\frac{2\sigma_{WT}^2}{n_1} + \nu_{1T} \right) + n_2(2\sigma_{WT}^2 + \nu_{2T}) - n_2 \left(\frac{2\sigma_{WT}^2}{n_2} + \nu_{2T} \right) \right] \\
&= \frac{1}{(n_1 + n_2 - 2)} (n_1 2\sigma_{WT}^2 - 2\sigma_{WT}^2 + n_2 2\sigma_{WT}^2 - 2\sigma_{WT}^2) \\
&= \frac{2\sigma_{WT}^2}{(n_1 + n_2 - 2)} (n_1 + n_2 - 2) = 2\sigma_{WT}^2.
\end{aligned}$$

Assim, $M_T = (\hat{\sigma}_{WT, MVR}^2)/2$ é estimador não viciado para σ_{WT}^2 . E da suposição de normalidade para I_{ij} , $\frac{n_T M_T}{\sigma_{WT}^2} \sim \chi_{n_T}^2$ ou $M_T \sim \frac{\sigma_{WT}^2 \chi_{n_T}^2}{n_T}$, com $n_T = n_1 + n_2 - 2$.

De forma análoga podemos obter o estimador de σ_{WR}^2 utilizando R_{ij} . Assim, estimadores não viciados (ENV) para σ_{WT}^2 e σ_{WR}^2 são dados por:

$$M_T = \hat{\sigma}_{WT}^2 = \frac{1}{2n_T} \sum_{i=1}^s \sum_{j=1}^{n_i} (T_{ij} - \bar{T}_i)^2, \quad (3.36)$$

$$M_R = \hat{\sigma}_{WR}^2 = \frac{1}{2n_R} \sum_{i=1}^s \sum_{j=1}^{n_i} (R_{ij} - \bar{R}_i)^2, \quad (3.37)$$

onde:

$$n_T = n_R = n_I = \left(\sum_{i=1}^s n_i \right) - s.$$

C- Propriedades dos estimadores:

Resumindo, temos que os estimadores $\hat{\delta}$, M_I , M_T e M_R são independentes entre si e possuem distribuição:

$$\hat{\delta} \sim N \left(\delta, \frac{1}{s^2} \sum_{i=1}^s \frac{1}{n_i} \sigma_I^2 \right) \quad (3.38)$$

$$M_I \sim \frac{\sigma_I^2 \chi^2(n_I)}{n_I} \quad (3.39)$$

$$M_T \sim \frac{\sigma_{WT}^2 \chi^2(n_T)}{n_T} \quad (3.40)$$

$$M_R \sim \frac{\sigma_{WR}^2 \chi^2(n_R)}{n_R} \quad (3.41)$$

Utilizando a relação entre os parâmetros da equação 3.22, e os estimadores das equações 3.23, 3.25, 3.36 e 3.37, podemos redefinir o critério como :

$$\hat{\eta}_1 = \hat{\delta}^2 + M_I + 0,5M_T - (1,5 + \theta_I)M_R, \quad (3.42)$$

$$\hat{\eta}_2 = \hat{\delta}^2 + M_I + 0,5M_T - 1,5M_R - \theta_I\sigma_{W0}^2. \quad (3.43)$$

3.3.3 Intervalo de Confiança

Agora, para verificar BEI precisamos obter o limite superior do Intervalo de Confiança para $\hat{\eta}_1$ ou $\hat{\eta}_2$, definido por H_{η_1} ou H_{η_2} . Para utilizar a generalização de Howe para H_{η_1} ou H_{η_2} precisamos calcular o limite superior do Intervalo de Confiança para cada componente de 3.42 ou 3.43. Um resumo dos limites superiores de confiança para cada componente de $\hat{\eta}_1$ e $\hat{\eta}_2$ são apresentados nas tabelas 3.2 e 3.3.

A seguir são calculados os limites superiores do intervalo de confiança para cada componente de $\hat{\eta}_1$ dado pela equação 3.42, e de forma análoga pode ser obtido para $\hat{\eta}_2$.

1. Limite Superior de Confiança para $\hat{\delta}^2$.

Hyslop et al. se baseou no intervalo de confiança para $|\delta|$ proposto por Hsu et al. [28] para construir o intervalo para δ^2 . Considere $\delta = \mu_T - \mu_R$ ou $\delta = (\mu_T/\mu_R) - 1$ e Δ o limite especificado pela agência reguladora. A hipótese a ser testada é:

$$H_0 : |\delta| \geq \Delta \text{ vs. } H_a : |\delta| < \Delta \quad (3.44)$$

Ou utilizando as hipóteses definidas pelo Teste de Schuirmann:

$$H_0^+ : \delta \geq \Delta \text{ vs. } H_a^+ : \delta < \Delta \quad (3.45)$$

$$H_0^- : \delta \leq -\Delta \text{ vs. } H_a^- : \delta > -\Delta \quad (3.46)$$

Para o teste de Schuirmann, rejeitamos H_0 definida pela equação 3.44 se rejeitarmos ambas as hipóteses definidas pelas equações 3.45 e 3.46. Este teste tem R^+ região crítica para H_0^+ e R^- região crítica para H_0^- , de modo que a região crítica total é dada por $R^+ \cap R^-$. O teste com região de rejeição $R^+ \cap R^-$ tem no máximo nível α para testar 3.44 se ambos níveis de R^+ e R^- são no máximo α para testar H_0^+ e H_0^- em 3.45 e 3.46.

Considere $D = \hat{\mu}_T - \hat{\mu}_R$ e seus respectivos estimadores dada pela equação 3.23. Sabemos que $\hat{\delta} \sim N(\delta, \sigma_\delta^2)$. Assim, a estatística do teste $T(\delta)$ pode ser definida por:

$$T(\delta) \equiv T(\delta, D) = \frac{(D - \delta)}{\hat{\sigma}_\delta} \sim t_\nu,$$

com regiões de rejeição

$$R^+ : T(\Delta, D) \leq -t_\alpha \quad R^- : T(-\Delta, D) \geq t_\alpha,$$

e a região de rejeição $R^+ \cap R^-$ é determinada pela inequação:

$$\Delta \geq \max(D + t_\alpha \hat{\sigma}_\delta, -D + t_\alpha \hat{\sigma}_\delta) = |D| + t_\alpha \hat{\sigma}_\delta.$$

Assim, o intervalo $[0, |D| + t_\alpha \hat{\sigma}_\delta]$ tem coeficiente de confiança exatamente de $1 - \alpha$. De forma equivalente, o Intervalo de confiança com coeficiente $1 - \alpha$ simétrico para δ , I_s , é dado por:

$$I_s = (|\hat{\delta}| \pm t_{\alpha, n_I} \hat{\sigma}_\delta) \quad (3.47)$$

Portanto o limite superior para δ^2 é dado por:

$$H_D = (|\hat{\delta}| + t_{\alpha, n_I} \hat{\sigma}_\delta)^2 \quad (3.48)$$

2. Limite Superior de Confiança para M_I , M_T e M_R

Sabemos que $\frac{n_q M_q}{\sigma_q^2} \sim \chi_{n_q}^2$, para $q = I, T$ e R . Portanto, o limite superior do IC com coeficiente $1 - \alpha$ para σ_q^2 é dado por $\frac{n_q M_q}{\chi_{\alpha, n_q}^2}$. Pode ser obtido de forma equivalente para a combinação linear $c_q M_q$, onde c_q corresponde a constante da combinação linear.

$$H_q = \begin{cases} \frac{c_q n_q M_q}{\chi_{\alpha, n_q}^2}, & \text{se } c_q > 0; \\ \frac{c_q n_q M_q}{\chi_{1-\alpha, n_q}^2}, & \text{se } c_q < 0. \end{cases} \quad (3.49)$$

Assim, já obtivemos os limites superiores de $\hat{\delta}^2$, M_I , $0,5M_T$ e $-(1,5 + \theta_I)M_R$, definidos por H_D , H_I , H_T e H_R .

Para construir o limite superior de $\hat{\eta}_1$ foi utilizado uma generalização do procedimento proposto por Howe [27]. Howe desenvolveu uma extensão da expansão de Cornish-Fisher para calcular percentis para soma de duas variáveis aleatórias com distribuições conhecidas. Sugeriu também que

poderia ser aplicado para qualquer combinação linear, a qual o método de Hyslop utiliza. Assim, temos que o limite superior para $\mu x + \mu y$ com coeficiente β é dado por :

$$X + Y + (sinalV)|V|^{1/2},$$

onde $V = (X_B - X)|X_B - X| + (Y_B - Y)|Y_B - Y|$, e X_B e Y_B são os limites superiores de μx e μy , respectivamente.

Aplicando ao nosso caso, temos:

$$U_T = E_D + E_I + E_T + E_R + (sinalV)|V|^{1/2}$$

onde

$$\begin{aligned} V &= (H_D - E_D)^2 + (H_I - E_I)^2 + (H_T - E_T)^2 + (H_R - E_R)^2 \\ &= \sum (H_q - E_q)^2 = \sum U_q \quad \text{para } q = D, I, T \text{ e } R. \end{aligned}$$

Portanto, $U_T = \sum E_q + (\sum U_q)^{1/2}$.

Assim, temos que o limite superior de confiança com coeficiente $1 - \alpha$ para $\hat{\eta}_1$ e $\hat{\eta}_2$ são dados por:

$$H_{\eta_1} = \sum E_q + (\sum U_q)^{1/2} \quad (3.50)$$

$$H_{\eta_2} = \sum E_q - \theta_I \sigma_{W0}^2 + (\sum U_q)^{1/2} \quad (3.51)$$

com $q = D, I, T$ e R .

Tabela 3.2: Estimativas para Cálculo de H_{η_1}

E_q = Estimativa Pontual	H_q = Limite Superior de Confiança	$U_q = (H_q - E_q)^2$
$E_D = \hat{\delta}^2$	$H_D = \left(\hat{\delta} + t_{1-\alpha, n-s} \left(\frac{1}{s^2} \sum_{i=1}^s \frac{1}{n_i} M_I \right)^{1/2} \right)^2$	U_D
$E_I = M_I$	$H_I = \frac{(n-s)M_I}{\chi_{\alpha, n-s}^2}$	U_I
$E_T = 0,5M_T$	$H_T = \frac{0,5(n-s)M_T}{\chi_{\alpha, n-s}^2}$	U_T
$E_R = -(1,5 + \theta_I)M_R$	$H_R = \frac{-(1,5 + \theta_I)(n-s)M_R}{\chi_{1-\alpha, n-s}^2}$	U_R

Fonte: Hyslop et al.(2000)

Tabela 3.3: Estimativas para Cálculo de H_{η_2}

$E_q =$ Estimativa Pontual	$H_q =$ Limite Superior de Confiança	$U_q = (H_q - E_q)^2$
$E_D = \hat{\delta}^2$	$H_D = \left(\hat{\delta} + t_{1-\alpha, n-s} \left(\frac{1}{s^2} \sum_{i=1}^s \frac{1}{n_i} M_I \right)^{1/2} \right)^2$	U_D
$E_I = M_I$	$H_I = \frac{(n-s)M_I}{\chi_{\alpha, n-s}^2}$	U_I
$E_T = 0,5M_T$	$H_T = \frac{0,5(n-s)M_T}{\chi_{\alpha, n-s}^2}$	U_T
$E_R = -(1,5)M_R$	$H_R = \frac{-(1,5)(n-s)M_R}{\chi_{1-\alpha, n-s}^2}$	U_R

Fonte: FDA (2001)

3.3.4 Algoritmo

1. Especifique os valores de σ_{W0} e o limite de bioequivalência θ_I ;
2. Obtenha os estimadores dos parâmetros das equações 3.23, 3.25, 3.36 e 3.37 e substitua em 3.42 ou 3.43;
3. Calcule os limites superiores de confiança para cada componente conforme tabela 3.2 ou tabela 3.3;
4. Substitua os valores encontrados em 3.50 ou 3.51;
5. Conclua BEI com nível de significância α se o valor encontrado para H_{η_1} ou H_{η_2} é menor o que zero.

A tabela 3.4 apresenta os resultados para estimativa do nível de significância do teste supondo $\sigma_D = 0$, $\sigma_{WT} = \sigma_{WR} = (0, 15, 0, 20, 0, 30, 0, 50)$ e $\delta^2 = 2,4968\sigma_{WR}^2$, onde 2,4948 corresponde ao limite de bioequivalência θ_I . O tamanho da amostra varia de 10-40 indivíduos, assim, tem-se no mínimo 5 indivíduos e no máximo 20 indivíduos por sequência.

Para estimar o nível de significância foram utilizadas 15.500 simulações para cada combinação dos parâmetros. Este número de simulações garante que o intervalo de confiança de 95% para as probabilidades estimadas estão dentro de $\pm 0,34\%$.

Para a tabela 3.5 foram fixados $\delta = 0$, $\sigma_D^2 = 2,4968\sigma_{WR}^2$ e os demais parâmetros são os mesmos da tabela 3.4. Pode-se notar, que para todas as combinações dos parâmetros o método de Hyslop et al. mantém o nível de significância (erro tipo I) em 5%.

Tabela 3.4: Estimativa para o Nível de Significância do Teste Baseado em 15.500 Simulações para cada Combinação dos Parâmetros

Cenário	$\mu_T - \mu_R$	$\sigma_{WT} = \sigma_{WR}$	Tamanho Amostra	$P(H_\eta < 0)$
1	0,2369	0,15	10	0,037
			15	0,043
			20	0,044
			25	0,046
			30	0,049
			35	0,051
			40	0,045
2	0,3159	0,20	10	0,037
			15	0,044
			20	0,043
			25	0,045
			30	0,045
			35	0,046
			40	0,046
3	0,4739	0,30	10	0,045
			15	0,048
			20	0,047
			25	0,052
			30	0,052
			35	0,055
			40	0,054
4	0,7898	0,50	10	0,039
			15	0,046
			20	0,040
			25	0,046
			30	0,048
			35	0,047
			40	0,050

Fonte: Hyslop et al.(2000)

Tabela 3.5: Estimativa para o Nível de Significância do Teste Baseado em 15.500 Simulações para cada Combinação dos Parâmetros

Cenário	σ_D	$\sigma_{WT} = \sigma_{WR}$	Tamanho Amostra	$P(H_\eta < 0)$
5	0,2369	0,15	10	0,027
			15	0,033
			20	0,031
			25	0,034
			30	0,034
			35	0,037
			40	0,038
6	0,3159	0,20	10	0,027
			15	0,029
			20	0,032
			25	0,033
			30	0,034
			35	0,033
			40	0,037
7	0,4739	0,30	10	0,030
			15	0,035
			20	0,036
			25	0,039
			30	0,044
			35	0,042
			40	0,044
8	0,7898	0,50	10	0,028
			15	0,034
			20	0,035
			25	0,035
			30	0,039
			35	0,036
			40	0,036

Fonte: Hyslop et al.(2000)

3.4 McNally et al.(2003)

McNally et al. propõe em [38] utilizar o Teste Baseado no Valor-p Generalizado (VPG) como alternativa ao método proposto por Hyslop. O teste sugerido utiliza a Função de Teste Generalizado (FTG) introduzida por Tsui e Weerahandi [51]. Esta metodologia permite construir testes de hipóteses para problemas em que a distribuição da estatística do teste depende de um ou mais parâmetros de perturbação.

Considere o modelo estatístico proposto por Chinchilli e Esinhart [10], descrito no capítulo anterior seção 2.2 e abordado também no método proposto por Hyslop:

$$Y_{ijkl} = \mu_k + \gamma_{ikl} + \delta_{ijk} + \varepsilon_{ijkl} \quad (3.52)$$

com:

$$i = 1, \dots, s \quad j = 1, \dots, n_i \quad k = T, R \quad l = 1, \dots, p_{ik}$$

e μ_k e γ_{ikl} são os efeitos fixos para tratamento e replicação, δ_{ijk} corresponde ao efeito aleatório do indivíduo e ε_{ijkl} ao erro aleatório. Assumimos que,

$$\begin{aligned} \varepsilon_{ijkl} \text{ são i.i.d. } &\sim N(0, \sigma_{Wk}^2) \\ \delta_{ij} = [\delta_{ijT}, \delta_{ijR}]' &\sim N_2 \left(0, \begin{pmatrix} \sigma_{BT}^2 & \rho \sigma_{BT} \sigma_{BR} \\ \rho \sigma_{BT} \sigma_{BR} & \sigma_{BR}^2 \end{pmatrix} \right) \end{aligned}$$

Para identificabilidade do modelo também supomos que a soma dos efeitos que representam a interação sequência x período dentro de cada tratamento deve ser zero, i.e.,

$$\sum_{i=1}^s \sum_{l=1}^r \gamma_{ikl} = 0 \quad \text{para } k = T, R$$

3.4.1 Critério:

A função de teste generalizado é utilizada para calcular o valor-p generalizado, e este mede a discrepância entre os dados e a hipótese nula. Suponha as seguintes hipóteses $H_0 : \theta \geq \theta_0$ vs. $H_a : \theta < \theta_0$. Tsui e Weerahandi definiram $T(X; x, \xi)$ como a FTG, onde x é o valor observado do vetor aleatório X , e $\xi = (\theta, \zeta)$, com θ parâmetro escalar de interesse e ζ o vetor com um ou mais parâmetros de perturbação. A função $T(X; x, \xi)$ deve satisfazer três propriedades:

1. $T(x; x, \xi) = t$ que não depende de ξ ;

2. Para x e ξ fixos, a distribuição de $T(X; x, \xi)$ é livre do parâmetro de perturbação ζ ;
3. Para x e ζ fixos, $P(T(X; x, \xi) \geq t/\theta)$ é não decrescente em θ .

Assim, o valor-p generalizado (VPG) é definido por:

$$p = \text{Sup}_{\theta \geq \theta_0} P(T(X; x, \xi) \leq t/\theta)$$

e pela propriedade 3,

$$p = \text{Sup}_{\theta \geq \theta_0} P(T(X; x, \xi) \leq t/\theta) = P(T(X; x, \xi) \leq t/\theta).$$

Pela definição das propriedades 1 e 2, temos que VPG não depende dos parâmetros de perturbação, podendo ser calculado baseado somente nas informações dos dados.

Rejeitamos a hipótese nula, $H_0 : \theta \geq \theta_0$, ao nível de significância α se $p \leq \alpha$. Aplicando agora no contexto de bioequivalência individual, temos $\xi = (\theta_I, \sigma_I^2, \sigma_{WT}^2, \sigma_{WR}^2)$, definindo θ_I como parâmetro de interesse e $\zeta = (\sigma_I^2, \sigma_{WT}^2, \sigma_{WR}^2)$ como vetor de parâmetros de perturbação. A FTG para BEI é definida por:

$$T(X; x, \xi) = \frac{\theta_I \max(\sigma_{W0}^2, \frac{ss_{WR}}{SS_{WR}} \sigma_{WR}^2) + 1.5 \frac{ss_{WR}}{SS_{WR}} \sigma_{WR}^2}{(d - Z_d) \sqrt{(c^2 \sigma_I^2 \frac{ss_I}{SS_I})^2 + \frac{ss_I}{SS_I} \sigma_I^2 - 0,5 \frac{ss_{WT}}{SS_{WT}} \sigma_{WT}^2}} \quad (3.53)$$

$$= \frac{\theta_I \max(\sigma_{W0}^2, \frac{ss_{WR}}{U_R}) + 1.5 \frac{ss_{WR}}{U_R}}{(d - Z_d) \sqrt{(c^2 \frac{ss_I}{U_I})^2 + \frac{ss_I}{U_I} - 0,5 \frac{ss_{WT}}{U_T}}} \quad (3.54)$$

$$p = P(T(X; x, \xi) < 1/\theta_I = 2.49), \quad (3.55)$$

onde d , ss_{WR} , ss_I e ss_{WT} são os valores observados de D , SS_{WR} , SS_I e SS_{WT} . Agora, a distribuição de $T(X; x, \xi)$ da equação 3.54 é livre de qualquer parâmetro de perturbação.

Note que $T(x; x, \xi) = 1$ quando D , SS_{WR} , SS_I e SS_{WT} são iguais aos seus respectivos valores observados.

Após a definição da FTG, é necessário calcular o valor do GPV dado pela equação 3.55 para verificar se a hipótese nula $H_0 : \theta \geq \theta_0$ é rejeitado ao nível de significância α . Para estimar esta probabilidade é recomendável utilizar simulação Monte Carlo. De forma que, o erro associado a estimativa pode ser minimizado utilizando um grande número de simulações. Ao utilizar 50.000 simulações resulta numa estimativa de GPV com erro padrão de no máximo 0,2%.

Da mesma forma que nos métodos anteriores, para avaliar BEI utilizando o critério da equação 3.54 é recomendável um planejamento *crossover* de ordem superior.

3.4.2 Estimação:

Para estimação dos parâmetros considere o modelo estatístico definido pela equação 3.52.

Em relação ao tipo de planejamento, considere o *crossover* $s \times 4$, com 4 períodos e s seqüências. A seguir são apresentados estimadores dos parâmetros e a relação com os estimadores de M_I , M_T e M_R obtidos pelo método de Hyslop.

$$SS_I = \sum_{i=1}^s \sum_{j=1}^{n_i} (D_{ij} - \bar{D}_i)^2 = M_I * n_I \quad (3.56)$$

$$SS_{WT} = \sum_{i=1}^s \sum_{j=1}^{n_i} (E_{ijT} - \bar{E}_{i*T})^2 = M_T * n_T \quad (3.57)$$

$$SS_{WR} = \sum_{i=1}^s \sum_{j=1}^{n_i} (E_{ijR} - \bar{E}_{i*R})^2 = M_R * n_R \quad (3.58)$$

com $i = 1, \dots, s$; $j = 1, \dots, n_i$; $k = T, R$,

onde

$$\begin{aligned} \bar{Y}_{ijk} &= \frac{1}{2}(Y_{ijk1} + Y_{ijk2}), \\ D_{ij} &= \bar{Y}_{ijT} - \bar{Y}_{ijR} = I_{ij} \quad \text{e} \quad \bar{D}_i = \frac{1}{n_i} \sum_j D_{ij}, \\ E_{ijk} &= \frac{1}{\sqrt{2}}(Y_{ijk1} - Y_{ijk2}) \quad \text{e} \quad \bar{E}_{i*k} = \frac{1}{n_i} \sum_{j=1}^{n_i} E_{ijk}. \end{aligned}$$

Através da suposição de normalidade para Y_{ijkl} , temos que as variáveis aleatórias Z_D , U_I , U_T e U_R possuem as seguintes distribuições:

$$Z_D = \frac{D - \delta}{c\sigma_I} \sim N(0, 1), \quad (3.59)$$

$$U_I = \frac{SS_I}{\sigma_I^2} \sim \chi_{n_I}^2, \quad (3.60)$$

$$U_T = \frac{SS_{WT}}{\sigma_{WT}^2} \sim \chi_{n_T}^2, \quad (3.61)$$

$$U_R = \frac{SS_{WR}}{\sigma_{WR}^2} \sim \chi_{n_R}^2, \quad (3.62)$$

onde

$$\begin{aligned} D &= \frac{1}{s} \sum_i \bar{D}_i, \\ c &= \sqrt{\left(\frac{1}{s^2} \sum_i \frac{1}{n_i} \right)}. \end{aligned}$$

Temos ainda que as variáveis Z_D , U_I , U_T e U_R são mutuamente independentes.

3.4.3 Algoritmo

1. Atribua os valores $\theta_I = 2,49$ e $\sigma_{W0}^2 = 0,04$;
2. Obtenha as estimativas dadas pelas equações 3.56 a 3.58;
3. Gere Z_D , U_I , U_T e U_R de acordo com as distribuições especificadas pelas equações 3.59 a 3.62;
4. Substitua os valores obtidos na equação da FTG em 3.54;
5. Repita os passos 3 e 4 utilizando 50.000 simulações Monte Carlo;
6. Calcule o VPG dado pela equação 3.55;
7. Conclua BEI ao nível α , se o valor de $p \leq \alpha$.

Mcnally et al. realizaram um estudo de simulação para comparar os métodos de Quiroz, Hyslop e VPG tanto em BEI quanto BEP. Os métodos foram avaliados em relação a habilidade de manter o erro tipo I (taxa de falsa rejeição) e o poder do teste (rejeitar a hipótese nula de não-bioequivalência quando a hipótese alternativa de bioequivalência é verdadeira).

Para esta simulação foi utilizado planejamento *crossover* 2x4 com n indivíduos em cada sequência.

Foram computados 180 combinações distintas dos parâmetros com 5000 conjuntos de dados simulados, e para encontrar o valor de VPG foram utilizados 10.000 simulações Monte Carlo. Pois segundo McNally, a performance dos três métodos não mudam quando são utilizados mais do que 10.000 simulações Monte Carlo para estimar VPG. Entretanto, para qualquer aplicação real o número de simulações recomendado deve ser maior do que as 10.000 utilizadas.

Em relação a taxa de rejeição empírica, o método de Quiroz não excede o valor nominal de 0,05 em nenhum caso. Enquanto que o método de Hyslop excede em 8 dos 180 casos analisados, e o método GPV em 13 do total de casos analisados. McNally notou ainda, que em 145 dos 180 casos analisados o método de Hyslop apresenta uma taxa de falsa rejeição maior ou igual ao método de GPV.

Para o poder do teste, ele concluiu que embora VPG e o método de Hyslop sejam similares tanto no Poder do Teste quanto tamanho da amostra, conforme tabela 3.6, o método VPG é contínuo no

ponto de mudança σ_{W0}^2 e é pouco anti-conservativo nesta região, enquanto que o método de Hyslop é descontínuo.

Para verificar as possíveis consequências da escolha de utilizar a escala constante ou escala referência para o método de Hyslop, considere como exemplo um estudo com planejamento *crossover* 2x4 com 10 indivíduos por sequência e valores observados dos parâmetros $\hat{\delta} = 0,15$, $\hat{\sigma}_{WT}^2 = 0,05$, $\hat{\sigma}_D^2 = 0$ e $\hat{\sigma}_{WR}^2$ no intervalo $[0,039; 0,049]$. McNally demonstrou que o método de Hyslop conclui BEI para valores de $\hat{\sigma}_{WR}^2 < 0,04$ e $\hat{\sigma}_{WT}^2 > 0,475$, mas não conclui BEI nos valores intermediários.

Esta é a principal vantagem do método VPG em relação ao método de Hyslop, pois elimina a necessidade da escolha entre a escala constante e a escala referência. Outra vantagem é que o método GPV geralmente provê maior evidência contra a hipótese nula. Por exemplo, o limite superior de confiança de 95% do método de Hyslop para dois conjuntos de dados distintos resultou em -0,040 e -0,048. Enquanto que para o método VPG resultou em 0,018 e 0,003, isto sugere que o grau de evidência para concluir BEI nestes dois estudos são bastante distintos.

Tabela 3.6: Poder do Teste para Métodos VPG e Hyslop

Método	σ_D	$\sigma_{WR} = \sigma_{WT} = 0,15$		$\sigma_{WR} = \sigma_{WT} = 0,2$		$\sigma_{WR} = \sigma_{WT} = 0,23$		$\sigma_{WR} = \sigma_{WT} = 0,3$		$\sigma_{WR} = \sigma_{WT} = 0,5$	
		n	Poder	n	Poder	n	Poder	n	Poder	n	Poder
$\delta = 0,05$ Hyslop	0,01	5	0,866	8	0,811	11	0,820	13	0,806	13	0,821
	0,10	7	0,834	11	0,810	15	0,820	15	0,802	14	0,821
	0,15	10	0,803	17	0,815	21	0,811	18	0,811	15	0,820
VPG	0,01	5	0,834	8	0,822	11	0,849	14	0,810	14	0,818
	0,10	7	0,807	11	0,821	14	0,819	16	0,811	15	0,811
	0,15	11	0,816	17	0,827	20	0,818	19	0,813	15	0,800
$\delta = 0,1$ Hyslop	0,01	6	0,896	10	0,838	13	0,810	15	0,838	14	0,828
	0,10	8	0,836	14	0,836	17	0,806	17	0,810	14	0,801
	0,15	13	0,814	22	0,826	26	0,812	20	0,800	15	0,812
VPG	0,01	6	0,878	10	0,855	12	0,801	15	0,821	14	0,800
	0,10	8	0,813	13	0,814	16	0,813	18	0,825	15	0,806
	0,15	14	0,841	21	0,815	24	0,809	21	0,815	16	0,807

Fonte: McNally et al.(2003)

3.5 Dragalin et al.(2003)

Em geral, bioequivalência representa a comparação sobre a distância entre as distribuições das respostas farmacocinéticas dos medicamentos T e R. Dragalin et al. [14] definiram um método unificado para avaliar bioequivalência baseado na medida de divergência de Kullback-Leibler (DKL) para vários níveis de bioequivalência (BEI, BEP e BEM).

Considere o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ijk} = \mu_k + \delta_{jk} + \varepsilon_{ijk} \quad (3.63)$$

com

$$i = 1, 2, \quad j = 1, \dots, n_i, \quad k = T, R.$$

e μ_k corresponde ao efeitos fixo para tratamento, δ_{jk} corresponde ao efeito aleatório do indivíduo e ε_{ijk} ao erro aleatório. Assumimos que ε_{ijk} e δ_{jk} são independentes com média zero e variâncias $Var(\delta_{jk}) = \sigma_{Bk}^2$ e $Var(\varepsilon_{ijk}) = \sigma_{Wk}^2$. Assumimos ainda que $Cov(\varepsilon_{ijk}, \varepsilon_{ijk'}) = 0$ para $k \neq k'$. Para cada indivíduo δ_{jT} e δ_{jR} são correlacionados com coeficiente de correlação ρ e a variância da interação droga x indivíduo $\sigma_D^2 = Var(\delta_{jT} - \delta_{jR}) = \sigma_{BT}^2 + \sigma_{BR}^2 - 2\rho\sigma_{BT}\sigma_{BR}$.

3.5.1 Critério:

Para assegurar bioequivalência considere as seguintes hipóteses a serem testadas:

$$H_o : d(f_T, f_R) > d_0 \text{ vs. } H_a : d(f_T, f_R) \leq d_0, \quad (3.64)$$

onde f_T e f_R são funções densidade das observações para os medicamentos T e R, e d_0 é especificado pela agência reguladora.

Kullback e Leibler definiram em [34] a seguinte medida de distância entre as funções densidade de probabilidade f_T e f_R :

$$I(f_T, f_R) = E_{f_T} \log \frac{f_T}{f_R}$$

A medida de divergência de K-L, $d(f_T, f_R)$, foi definida por Dragalin et al. como $([I(f_T, f_R) + I(f_R, f_T)]^{1/2})^2 = [E \log(f_T/f_R) + E \log(f_R/f_T)]$, onde $I(f_T, f_R)$ é a informação de Kullback-Leibler. Assumindo que $Y_{ijR}|\delta_{ijR} \sim N(\mu_R + \delta_{ijR}, \sigma_{WR}^2)$ e $Y_{ijT}|\delta_{ijT} \sim N(\mu_T + \delta_{ijT}, \sigma_{WT}^2)$, a medida de divergência de Kullback-Leibler entre as distribuições de Y_{ijR} e Y_{ijT} , condicionada no j -ésimo indivíduo com características $(\delta_{ijR}, \delta_{ijT})$ é dada por:

$$d(f_{T,\delta}, f_{R,\delta}) = \frac{1}{2} \{ (\mu_T + \delta_{ijT} - \mu_R - \delta_{ijR})^2 + \sigma_{WT}^2 + \sigma_{WR}^2 \} \left(\frac{1}{\sigma_{WT}^2} + \frac{1}{\sigma_{WR}^2} \right) - 2$$

Assumindo adicionalmente que $(\delta_{ijR}, \delta_{ijT})$ tem distribuição normal bivariada com vetor de médias zero, a distribuição incondicional da medida de divergência de Kullback-Leibler pode ser obtida integrando $d(f_{T,\delta}, f_{R,\delta})$ sob o efeito de $(\delta_{ijR}, \delta_{ijT})$ dada por:

$$d(f_T, f_R) = \frac{1}{2} \{ (\mu_T - \mu_R)^2 + \sigma_D^2 + \sigma_{WT}^2 + \sigma_{WR}^2 \} \left(\frac{1}{\sigma_{WT}^2} + \frac{1}{\sigma_{WR}^2} \right) - 2 \quad (3.65)$$

ou

$$d(f_T, f_R) = \frac{1}{2} \left\{ \frac{\delta^2}{\sigma_{WT}^2} + \frac{\delta^2}{\sigma_{WR}^2} + \frac{\sigma_I^2}{\sigma_{WT}^2} + \frac{\sigma_I^2}{\sigma_{WR}^2} + \frac{\sigma_{WT}^2}{2\sigma_{WR}^2} + \frac{\sigma_{WR}^2}{2\sigma_{WT}^2} \right\} - \frac{3}{2} \quad (3.66)$$

onde $\sigma_I^2 = \sigma_D^2 + 1/2(\sigma_{WT}^2 + \sigma_{WR}^2)$.

Concluimos BEI entre os medicamentos T e R ao nível de significância α se o intervalo de confiança bootstrap percentil com coeficiente $1 - \alpha$ para $d(f_T, f_R)$ é menor do que o limite especificado d_0 .

Com base nas informações do estudo, se rejeitarmos a hipótese nula definida pela equação 3.64, podemos concluir bioequivalência entre os medicamentos T e R. Entretanto, se não rejeitarmos a hipótese nula não significa necessariamente que os dois medicamentos não são bioequivalentes, pois talvez seja necessário mais observações para demonstrar bioequivalência.

O critério atual para BEI utilizado pelo FDA especifica o limite de BE dependendo da variabilidade do medicamento referência, utilizando uma escala para drogas com alta variabilidade e outra para drogas que possuem janela terapêutica estreita. Esta opção do critério de escolher qual escala utilizar de acordo com a variabilidade do medicamento R causa uma descontinuidade no ponto de mudança σ_{W0}^2 , conforme já discutido anteriormente.

Além disso, a escala em ambos os critérios de BEP e BEI são assimétricos com relação à T e a R. Uma das discussões em estudos de BE é que os medicamentos T e R não podem ser tratados igualmente e deve-se demonstrar equivalência do medicamento T em relação a R, e não a relação inversa. Entretanto, pode haver interesse em testar bioequivalência entre dois medicamentos genéricos, e neste caso, é necessários que ambos medicamentos sejam tratados simetricamente.

Ainda não há uma especificação do limite de BE para a medida da DKL. Dragalin et. al, utilizou a mesma relação para construção do limite utilizado pelo FDA e descrito na seção 2.3.8. Fixando os

valores de $\delta = \log(1,25)$, $\sigma_D^2 = 0,03$, $\sigma_{WT}^2 = 0,04$ e $\sigma_{WT}^2 - \sigma_{WR}^2 = 0,02$ e substituindo na DKL para BEI dada pela equação 3.65, obtemos o valor aproximado de 1,75. Assim, concluímos BEI se o limite superior de 95% do intervalo de confiança bootstrap-percentil for menor do que o limite especificado de 1,75.

3.5.2 Estimação:

Para avaliar BEI utilizando DKL é necessário um planejamento *crossover* com pelo menos 3 períodos. Para estimar os parâmetros da equação 3.65 é recomendável utilizar o método de máxima verossimilhança restrita (MVR).

3.5.3 Propriedades da DKL:

Para avaliar BEI a divergência de Kullback-Leibler (DKL), que mede a discrepância entre as distribuições de T e R apresenta as seguintes vantagens:

1. **Propriedade hierárquica que BEI $\rightarrow$ BEP $\rightarrow$ BEM** (isto só ocorre no critério desagregado).

Seja $f_{R,\delta}(x)$ a função densidade condicional de Y_{jR} nos efeitos do medicamento do indivíduo, $(\delta_{jR}, \delta_{jT})$, e similarmente $f_{T,\delta}(x)$ a função densidade condicional para Y_{jT} .

Considere $\varphi(\delta_R, \delta_T)$ a função densidade conjunta dos efeitos da medicação no mesmo indivíduo.

A DKL pode ser definida como:

$$d(f_T, f_R) = E_\varphi \left[E_{f_{R,\delta}} \log \frac{f_{R,\delta}}{f_{T,\delta}} + E_{f_{T,\delta}} \log \frac{f_{T,\delta}}{f_{R,\delta}} \right]. \quad (3.67)$$

Teorema

A distância de Kullback-Leibler entre duas funções de probabilidade $p(x)$ e $q(x)$ é definida por:

$$D(p||q) = E_p \log \frac{p(X)}{q(X)}$$

Temos que $D(p||q)$ é convexa no par (p, q) , i.e., se (p_1, q_1) e (p_2, q_2) são dois pares de funções probabilidade então:

$$\begin{aligned} D(\lambda p_1 + (1 - \lambda)p_2 || \lambda q_1 + (1 - \lambda)q_2) \\ \geq \lambda D(p_1 || q_1) + (1 - \lambda)D(p_2 || q_2) \end{aligned}$$

para todo $0 \leq \lambda \leq 1$.

Aplicando a definição do teorema anterior na equação 3.67, temos:

$$\begin{aligned} d_I(f_T, f_R) &= E_\varphi \left[E_{f_{R,\delta}} \log \frac{f_{R,\delta}}{f_{T,\delta}} + E_{f_{T,\delta}} \log \frac{f_{T,\delta}}{f_{R,\delta}} \right] \\ &\geq E_{f_R} \log \frac{f_R}{f_T} + E_{f_T} \log \frac{f_T}{f_R} = d_P(f_T, f_R), \end{aligned}$$

onde $f_t(x) = \int f_{t,y}(x) \varphi(\delta_R, \delta_T) d\delta_R d\delta_T$ e d_I e d_P correspondem a DKL para BEI e BEP, respectivamente. Assim, podemos concluir que BEI implica em BEP. Analogamente pode ser demonstrado que BEP implica em BEM.

2. Satisfaz as propriedades de distância métrica.

Seja F e G duas distribuições no espaço mensurável com densidades f e g , respectivamente. A discrepância entre f e g é denotada por $\Delta(f, g)$, e satisfaz as seguintes propriedades de distancia:

- (a) $\Delta(f, g) \geq 0$ e $\Delta(f, g) = 0$ se $f = g$;
- (b) $\Delta(f, g) \leq \Delta(f, p) + \Delta(p, g)$;
- (c) $\Delta(f, g) = \Delta(g, f)$.

3. É invariante para transformações monótonas dos dados.

Geralmente, os critérios de bioequivalência utilizados são formulados para a resposta da medida de BD na escala logarítmica. Para BEM, a diferença de médias entre T e R na escala logarítmica pode ser transformada para a razão de médias de T e R na escala original. Entretanto, para os critérios agregado para BEI na escala logarítmica não há uma interpretação clara transformação para a escala original.

Pode-se demonstrar que o método DKL é invariante para qualquer transformação monótona contínua diferenciável. Seja $Y = \phi(X)$, onde ϕ é contínua diferenciável e estritamente crescente ou decrescente com inversa $h(y) = \phi^{-1}(y)$ com função densidade dada por:

$$\begin{aligned} d(f_Y, g_Y) &= \int [f_Y(y) - g_Y(y)] \log \frac{f_Y(y)}{g_Y(y)} dy \\ &= \int [f_X(h(y)) - g_X(h(y))] |h'(y)| \log \frac{f_X(h(y))}{g_X(h(y))} dy \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
&= \int [f_X(x) - g_X(x)] \log \frac{f_X(x)}{g_X(x)} dx \\
&= d(f_X, g_X)
\end{aligned}$$

4. Pode ser generalizado para caso multivariado, por exemplo, *ASC* e *Cmax* podem ser avaliados juntamente.

Na maioria dos estudos de BE diferentes características farmacocinéticas são avaliadas separadamente como *ASC* e *Cmax*. O critério de DKL pode ser facilmente estendido para o caso multivariado quando todas as características são analisadas simultaneamente. Seja Y_{jR} e Y_{jT} observações dos medicamentos T e R, mas ao mesmo tempo são vetores aleatórios de dimensão $p \leq 2$ com componentes correspondendo as características a serem analisadas.

Sob a suposição de que f_T e f_R são funções de densidade multivariada com vetor de médias μ_T e μ_R , a generalização da DKL para BEI é dada por:

$$d(f_T, f_R) = \frac{1}{2} \text{tr}[(\mu_T - \mu_R)(\mu_T - \mu_R)^T + \Sigma_D + \Sigma_{WT} + \Sigma_{WR}][\Sigma_{WT}^{-1} + \Sigma_{WR}^{-1}] - 2p$$

onde Σ_{WT} e Σ_{WR} são as matrizes de covariância para os vetores de erro ε_T e ε_R , respectivamente, e $\Sigma_D = \text{Cov}(\delta_T - \delta_R)$.

5. É aplicável para qualquer distribuição pertencente a família exponencial para a resposta da medida de BD.

A medida de divergência $d(f_T, f_R)$ pode ser utilizada para qualquer distribuição que pertence a classe exponencial. Considere a forma canônica para a função densidade para a família exponencial:

$$f_\theta(x) = \exp \left\{ \sum_{i=1}^k \theta_i T_i(x) - \psi(\theta) \right\} h(x)$$

onde $\theta = (\theta_1, \theta_2, \dots, \theta_k)$ vetor de parâmetros de dimensão k , ψ função de valores reais para os parâmetros e T_i as respectivas estatísticas.

A medida de DKL é dada por:

$$d(f_{\theta_T}, f_{\theta_R}) = \sum_{i=1}^k (\theta_{iT} - \theta_{iR}) \left[\frac{\partial \psi(\theta)}{\partial \theta_i} \Big|_{\theta=\theta_T} - \frac{\partial \psi(\theta)}{\partial \theta_i} \Big|_{\theta=\theta_R} \right]$$

3.5.4 Algoritmo

1. Gerar reamostragem *Bootstrap* estratificada por sequência;
2. Obter os estimadores de máxima verossimilhança restrita para os parâmetros da equação 3.65;
3. Substitua os valores encontrados e obtenha DKL de acordo com equação 3.65;
4. Repetir passos 1-3 pelo menos 2000 vezes;
5. Obter L_{DKL} , o limite superior com coeficiente de confiança de 95% através do método Bootstrap percentil não-paramétrico;
6. Concluir BEI com nível de significância de 5%, se $L_{DKL} < 1,75$.

Em estudos de simulações o método de DKL mostrou-se sensível para detectar mudanças nas médias entre T e R e na presença da interação droga x indivíduo. Comparado ao método do FDA utilizando bootstrap-percentil, o critério de DKL mostrou-se ser mais restritivo para assegurar BEI.

Dragalin et.al, comparou 22 conjuntos de dados distintos e verificou BEI utilizando os métodos M_{I3} e DKL. O método de DKL concluiu BEI para somente 9 destes conjuntos, enquanto que M_{I3} concluiu para 20.

Estas simulações indicam que o critério M_{I3} tem um pequeno crescimento em σ_{WT}^2 que não é aceitável quando ocorre simultaneamente na presença de uma pequena interação droga x indivíduo e na presença de mudanças entre as médias dos medicamentos.

3.6 Ilustração com Dados Reais

3.6.1 Descrição dos Dados

Para verificar bioequivalência individual utilizando os métodos descritos, foram utilizados três conjuntos de dados com planejamento *crossover* 2x4 com características distintas.

O primeiro conjunto denominado Dados-Albert foi publicado por Albert e Smith em [1] e utilizado como exemplo de aplicação de vários dos métodos descritos anteriormente. Possui 10 indivíduos por seqüência e é classificado por ter alta variabilidade intra-indivíduo entre T e R (razão entre a variabilidade intra-indivíduo de T e R é igual a 4,13, sendo que o limite utilizado pelo FDA é 2,25). Seleccionamos também este conjunto de dados para aplicação dos conceitos dos modelos de diferença de média geral (Modelo I) e diferença de médias de T e R (Modelo II), discutidos no capítulo 1. De forma que, a tabela 3.7 apresenta as estimativas dos parâmetros para os modelos I e II, e a tabela 3.8 fornece a ANOVA para o modelo I considerando a transformação logarítmica dos dados.

O segundo conjunto de dados denominado Dados-Droga17a foi retirado do site do FDA em [54], neste site estão disponíveis dados de *ASC* e *Cmax* para vários tipos de planejamento *crossover*. Possui 19 e 18 indivíduos para as seqüências 1 e 2, respectivamente. É classificado segundo o FDA como tendo interação droga x indivíduo, pois o valor encontrado para desvio padrão da interação droga x indivíduo é maior que 0,15. Entretanto, é mais recomendado verificar se o efeito da interação é significativo no modelo.

O terceiro conjunto de dados denominado Dados-Phenytoin foi utilizado por Metzler em [39]. Possui 13 indivíduos por seqüência e tem como característica baixa variabilidade intra-indivíduo entre T e R.

Um resumo dos valores obtidos para os parâmetros utilizando EMVR para os componentes da variância e MQ para as médias de T e R é apresentado na tabela 3.9. As figuras 3.1 a 3.6 apresentam os gráficos de perfis para os indivíduos das seqüências 1 e 2 para os três conjuntos de dados analisados.

Tabela 3.7: Estimativas de Máxima Verossimilhança

Parâmetro	Estimativa	Erro padrão
Modelo I		
μ	6,81	0,15
G_1	-0,06	0,06
P_1	-0,11	0,088
P_2	-0,05	0,088
P_3	0,00074	0,088
F_R	-0,05	0,06
Modelo II		
μ_R	6,56	0,104
μ_T	6,61	0,104
γ_{1T2}	-0,10	0,122
γ_{2T1}	0,05	0,122
γ_{2T2}	0,18	0,122
γ_{1R2}	-0,20	0,122
γ_{2R1}	0,21	0,122
γ_{2R2}	0,18	0,122

Tabela 3.8: ANOVA *Crossover* 2x4 com Modelo I

Fonte	g.l.	SQ.	QM.=SQ/g.l.	F	valor-p
Entre-Indivíduos					
Sequência	1	0,078	0,078	0,49	0,49
Resíduos	18	2,86	0,16	2,03	0,02
Intra-Indivíduos					
Período	3	0,17	0,057	0,73	0,53
Medicamento	1	0,055	0,055	0,71	0,40
Resíduos	56	4,38	0,078		
Total	79	7,54			

Tabela 3.9: Estimativas dos Parâmetros Utilizando EMVR

Dados	μ_T	μ_R	σ_D^2	σ_{WT}^2	σ_{WR}^2	σ_{BT}^2	σ_{BR}^2
Albert	6,70	6,65	0,0016	0,124	0,03	0,014	0,026
Droga17a	7,62	7,66	0,025	0,09	0,06	0,39	0,36
Phenytoin	3,96	3,97	0	0,002	0,003	0,074	0,071

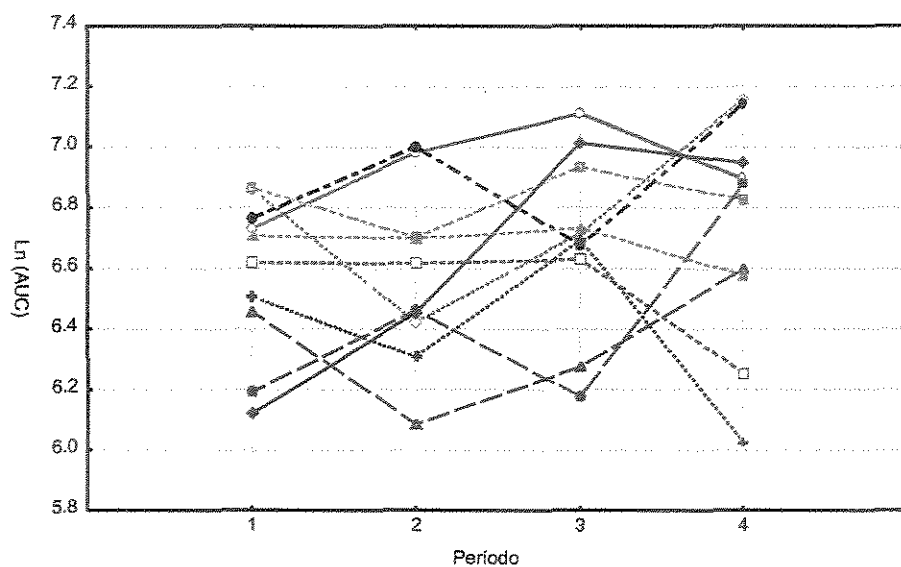


Figura 3.1: Respostas de $\ln(AUC)$ dos indivíduos da sequência 1 (RRTT) para Dados Albert

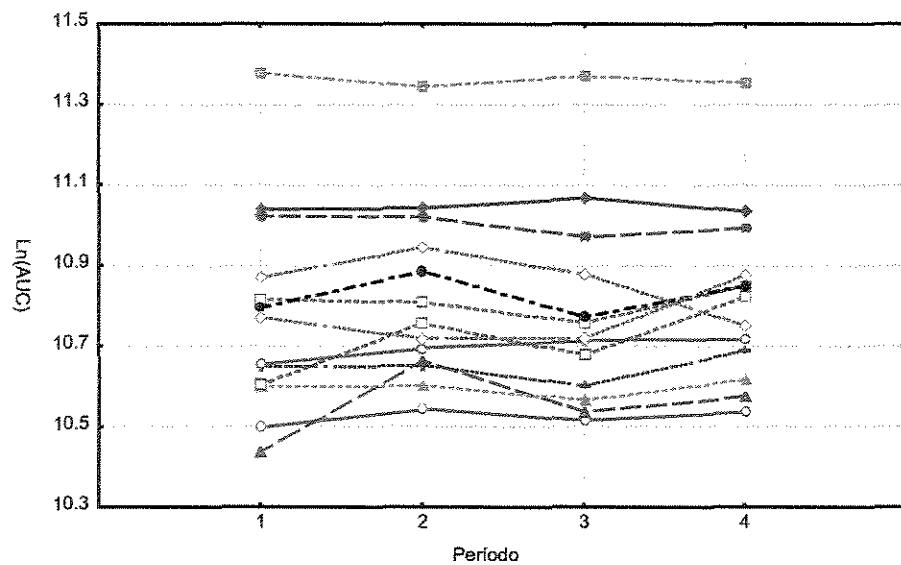


Figura 3.3: Respostas de $\ln(AUC)$ dos indivíduos da sequência 1 (RTTR) para Dados Phenytoin

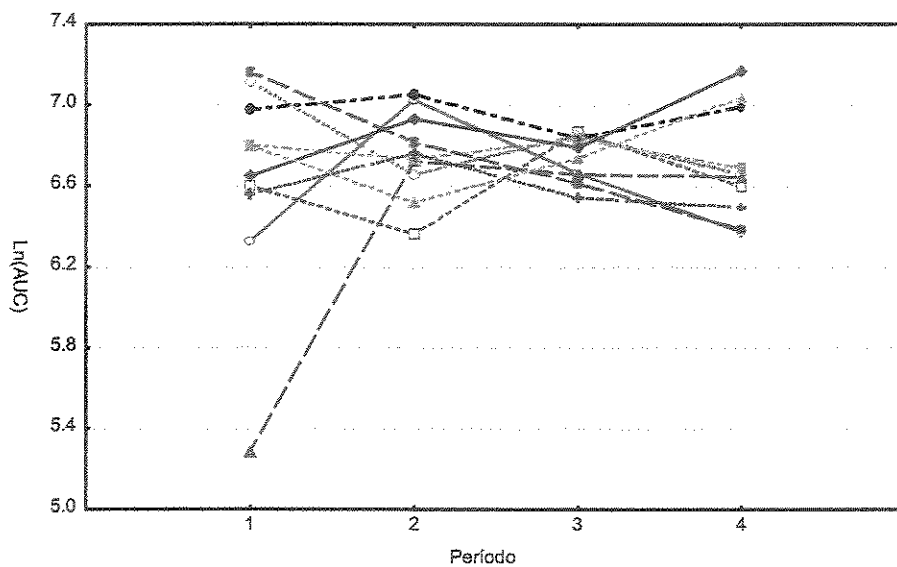


Figura 3.2: Respostas de $\ln(AUC)$ dos indivíduos da sequência 2 (TTRR) para Dados Albert

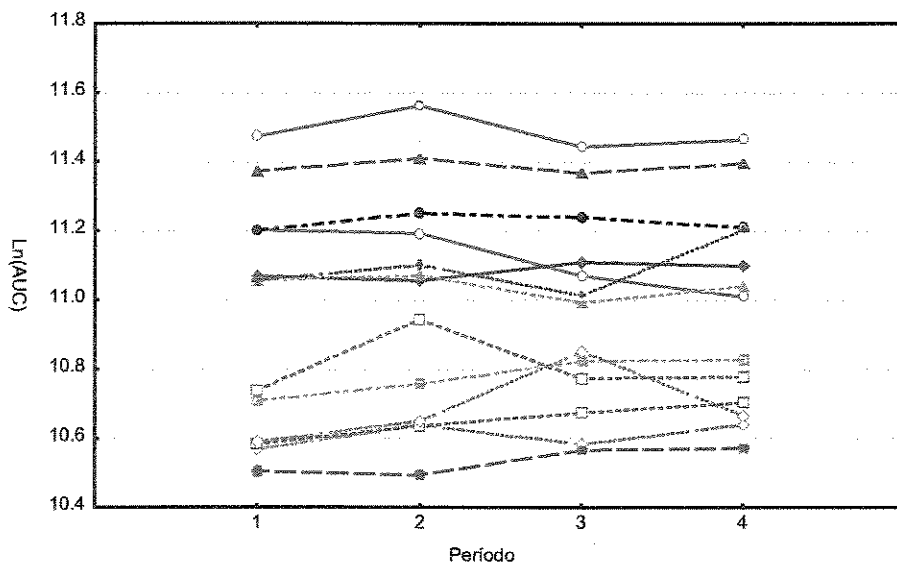


Figura 3.4: Respostas de $\ln(AUC)$ dos indivíduos da sequência 2 (TRRT) para Dados Phen-tyoin

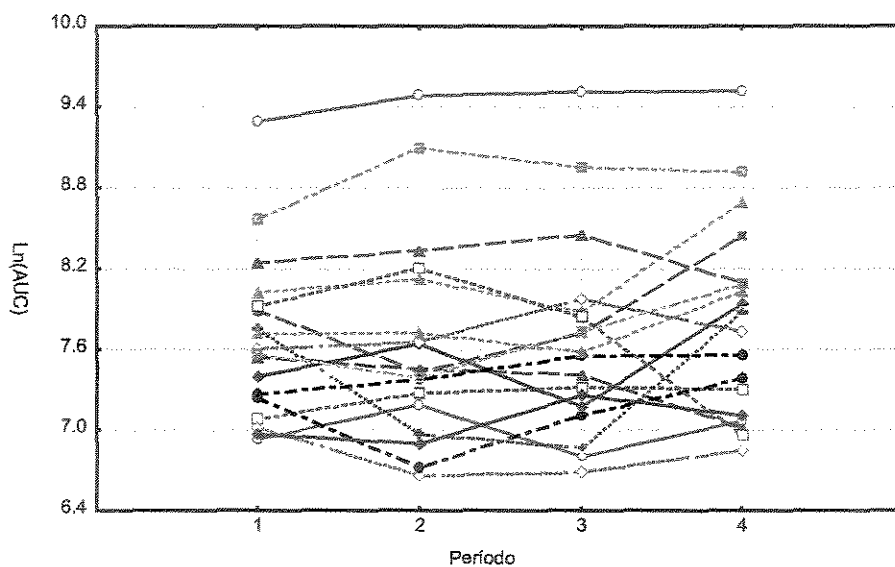


Figura 3.5: Respostas de $\ln(AUC)$ dos indivíduos da sequência 1(RTTR) para Dados Droga17a

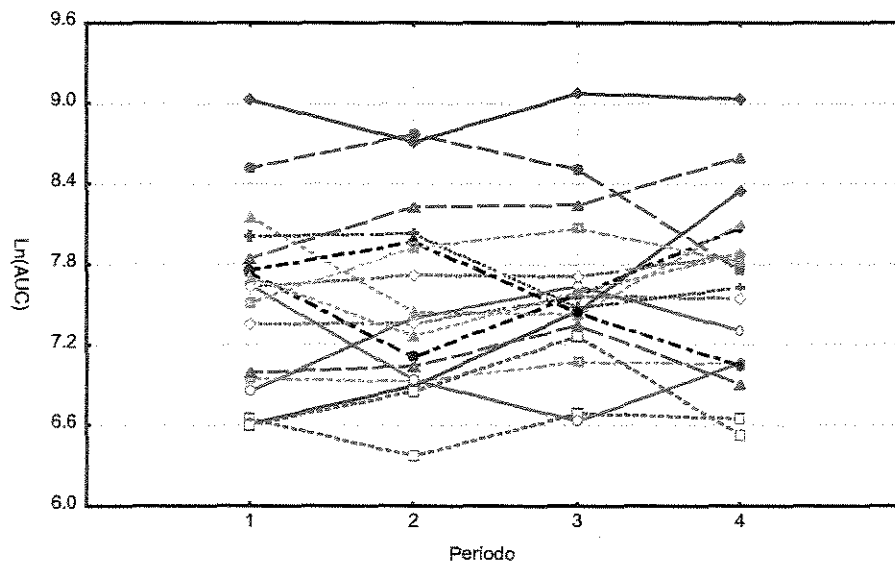


Figura 3.6: Respostas de $\ln(AUC)$ dos indivíduos da sequência 2(TRRT) para Dados Droga17a

3.6.2 Comparação dos Métodos

As tabelas 3.10 a 3.12 apresentam os resultados obtidos para cada um dos conjunto de dados analisados.

Para Dados-Albert, nota-se na tabela 3.10 que os métodos de Holder e Hsuan e Esinhart e Chinchilli concluíram BEI. Isto é justificado porque estes métodos não utilizam a componente da variância intra-indivíduo, que neste caso possui alta variabilidade.

Em relação aos Dados-Droga17a, praticamente metade dos métodos concluíram BEI, apesar de possuir alta interação segundo critério do FDA. Isto pode significar que a interação droga x indivíduo talvez não seja tão significativa.

Para Dados-Phenytoin, verifica-se que o único método que não resultou em BEI foi o de Kullback-Leibler, assim, o limite sugerido de 1,75 pode estar sendo muito restritivo.

Analisando BEM para estes mesmos conjuntos de dados através do intervalo de confiança clássico, concluímos que os medicamentos T e R são bioequivalentes em média para os três conjuntos analisados. O intervalo de bioequivalência é $[-0,2231; 0,2231]$ e os intervalos obtidos são: 1) Dados-Albert $[-0,0317; 0,1372]$, 2) Dados-Droga17a $[-0,1193; 0,0362]$ e 3) Dados-Phenytoin $[-0,0243; 0,0046]$.

Tabela 3.10: Comparação dos Métodos para Avaliar BEI para Dados-Albert

Método	Valor Obtido	Limite	Conclusão
Ekbohm e Melander	1,00	0,72	não BEI
Sheiner	8,45	3,25-3,5	não BEI
Holder e Hsuan	0,004425	0,0569	BEI
FDA Escala	4,36	2,25-2,5	não BEI
Hyslop	0,1184	0	não BEI
VPG-McNally	0,5036	0,05	não BEI
Kullback-Leibler	3,35	1,75	não BEI
Liu			não BEI
Esinhart e Chinchilli	$(-0,05;0,15)$	$(-0,28;0,28)$	BEI
Intervalo de Tolerância-Brown	$(0,66;1,28)$	$(0,75;1,25)$	não BEI
TIER Paramétrico	1,97	7,92	não BEI

Tabela 3.11: Comparação dos Métodos para Avaliar BEI para Dados-Droga17a

Método	Valor Obtido	Limite	Conclusão
Ekbohm e Melander	2,87	0,91	não BEI
Sheiner	3,64	3,25-3,5	não BEI
Holder e Hsuan	0,026	0,0569	BEI
FDA Referência	2,763	2,25-2,5	não BEI
Hyslop	0,02756	0	não BEI
VPg-McNally	0,1244	0,05	não BEI
Kullback-Leibler	1,45	1,75	BEI
Liu			BEI
Esinhart e Chinchilli	(-0,12;0,04)	(-0,28;0,28)	BEI
Intervalo de Tolerância-Brown	(0,63;1,45)	(0,75;1,25)	não BEI
TIER Paramétrico	3,21	9,52	não BEI

Tabela 3.12: Comparação dos Métodos para Avaliar BEI para Dados-Phenytoin

Método	Valor Obtido	Limite	Conclusão
Ekbohm e Melander	0,68	0,80	BEI
Sheiner	1,29	3,25-3,5	BEI
Holder e Hsuan	0,00011	0,0569	BEI
FDA Escala	0,017	2,25-2,5	BEI
Hyslop	-0,07	0	BEI
VPg-McNally	0	0,05	BEI
Kullback-Leibler	1,79	1,75	não BEI
Liu			BEI
Esinhart e Chinchilli	(-0,025;0,006)	(-0,28;0,28)	BEI
Intervalo de Tolerância-Brown	(0,94;1,03)	(0,75;1,25)	BEI
TIER Paramétrico	15,49	8,52	BEI

Capítulo 4

Um Intervalo de Confiança para DKL e Poder do Teste

4.1 Introdução

Neste capítulo será apresentada a proposta de um intervalo de confiança para a medida de Kullback-Leibler (DKL), utilizando a aproximação de Howe [27]. Howe desenvolveu uma extensão da expansão de Cornish-Fisher para calcular percentis para soma de duas variáveis aleatórias com distribuições conhecidas. Sugeriu também que poderia ser aplicado para qualquer combinação linear. Esta generalização é utilizada para Hyslop em substituição ao intervalo de confiança bootstrap percentil do critério do FDA (M_{I3}). De forma semelhante utilizamos este procedimento para construir um IC para a medida de DKL, lembrando que o IC sugerido por Dragalin et al. também utiliza o método bootstrap percentil. O estimador proposto para a medida de DKL por Dragalin et al.[14] é viciado para pequenas amostras e assim, apresentamos um outro estimador não viciado para DKL.

Os métodos baseados na aproximação de Howe tem as vantagens de serem de fácil implementação e possuírem precisão da ordem de $O_p(n^{-1})$. Enquanto, que métodos baseados no intervalo bootstrap percentil possuem precisão da ordem de $O_p(n^{-1/2})$ e necessitam de uso de intensivo do computador.

Na seção 4.2 será desenvolvida a proposta de DKL e na seção 4.3 é realizado um comparativo entre os métodos selecionados e uma breve descrição para obtenção do poder do teste em cada um dos métodos.

4.2 Um IC para DKL

Considere o modelo estatístico proposto por Esinhart e Chinchilli [10] e discutido na seção 3.3 para um planejamento *crossover* 2x4. A medida de DKL já definida na equação 3.65 é dada por:

$$d(f_T, f_R) = \frac{1}{2} \{ (\mu_T - \mu_R)^2 + \sigma_D^2 + \sigma_{WT}^2 + \sigma_{WR}^2 \} \left(\frac{1}{\sigma_{WT}^2} + \frac{1}{\sigma_{WR}^2} \right) - 2 \quad (4.1)$$

$$\begin{aligned} &= \frac{1}{2} \left\{ \delta^2 + \sigma_I^2 + \frac{\sigma_{WT}^2}{2} + \frac{\sigma_{WR}^2}{2} \right\} \left(\frac{1}{\sigma_{WT}^2} + \frac{1}{\sigma_{WR}^2} \right) - 2 \\ &= \frac{1}{2} \left\{ \frac{\delta^2}{\sigma_{WT}^2} + \frac{\delta^2}{\sigma_{WR}^2} + \frac{\sigma_I^2}{\sigma_{WT}^2} + \frac{\sigma_I^2}{\sigma_{WR}^2} + \frac{\sigma_{WT}^2}{2\sigma_{WT}^2} + \frac{\sigma_{WR}^2}{2\sigma_{WT}^2} \right\} - \frac{3}{2} \end{aligned} \quad (4.2)$$

onde $\sigma_I^2 = \sigma_D^2 + 1/2(\sigma_{WT}^2 + \sigma_{WR}^2)$ e $\delta^2 = (\mu_T - \mu_R)^2$.

O estimador de momentos para DKL já fornecido na equação 3.65 é dado por:

$$\widehat{d}(f_T, f_R) = \frac{1}{2} \left\{ \frac{\widehat{\delta}^2}{M_T} + \frac{\widehat{\delta}^2}{M_R} + \frac{M_I}{M_T} + \frac{M_I}{M_R} + \frac{M_T}{2M_R} + \frac{M_R}{2M_T} \right\} - \frac{3}{2} \quad (4.3)$$

Como o estimador da equação 4.3 é uma estimativa para DKL da equação 4.2 obtida através do método de momentos e a DKL é contínua, então o estimador da equação 4.3 é consistente (Bickel e Doksum [3]).

Propriedades dos estimadores:

O estimador $\widehat{\delta}$ possui distribuição dada por :

$$\frac{\widehat{\delta}^2}{\sigma_I^2/n} \sim \chi_1^2 \left(\frac{\delta^2}{\sigma_I^2/n} \right) \quad (4.4)$$

e M_I , M_T e M_R já definidos nas equações 3.25, 3.36 e 3.37 e demonstrados na seção 3.32, possuem distribuição dada por :

$$M_I \sim \frac{\sigma_I^2 \chi^2(n_I)}{n_I}, \quad (4.5)$$

$$M_T \sim \frac{\sigma_{WT}^2 \chi^2(n_T)}{n_T}, \quad (4.6)$$

$$M_R \sim \frac{\sigma_{WR}^2 \chi^2(n_R)}{n_R}, \quad (4.7)$$

onde $\nu = n_T = n_R = n_I = (\sum_{i=1}^s n_i) - s = n - s$.

Os estimadores $\widehat{\delta}$, M_I , M_T e M_R são mutuamente independentes.

4.2.1 Limite Superior do IC para DKL (DKL-1)

A seguir será obtido o limite superior do Intervalo de Confiança utilizando a aproximação de Howe para o estimador da DKL da equação 4.3 utilizando os conceitos discutidos por Hyslop, apresentados na seção 3.3.3. Considere os estimadores da equação 4.3 :

$$E_1 = \frac{1}{2} \left(\frac{\hat{\delta}^2}{M_T} \right), \quad (4.8)$$

$$E_2 = \frac{1}{2} \left(\frac{\hat{\delta}^2}{M_R} \right), \quad (4.9)$$

$$E_3 = \frac{1}{2} \left(\frac{M_I}{M_T} \right), \quad (4.10)$$

$$E_4 = \frac{1}{2} \left(\frac{M_I}{M_R} \right), \quad (4.11)$$

$$E_5 = \frac{1}{2} \left(\frac{M_T}{2M_R} \right), \quad (4.12)$$

$$E_6 = \frac{1}{2} \left(\frac{M_R}{2M_T} \right). \quad (4.13)$$

A seguir, apresentamos a distribuição destes estimadores, considerando que F_1 e F_2 possuem distribuição F não-central com 1 e ν graus de liberdade e parâmetro de não centralidade $\frac{\delta^2}{\sigma_I^2/n}$, F_3 , F_4 , F_5 e F_6 possuem distribuição F com ν e ν graus de liberdade.

$$E_1 = \frac{1}{2} \left(\frac{\hat{\delta}^2}{M_T} \right) = \frac{1}{2} \left(\frac{\frac{\sigma_I^2}{n} \left(\frac{\hat{\delta}^2}{\sigma_I^2/n} \right)}{\sigma_{WT}^2 \left(\frac{M_T}{\sigma_{WT}^2} \right)} \right) \sim \frac{1}{2} \left(\frac{\sigma_I^2}{n\sigma_{WT}^2} F_1 \right), \quad (4.14)$$

$$E_2 = \frac{1}{2} \left(\frac{\hat{\delta}^2}{M_R} \right) = \frac{1}{2} \left(\frac{\frac{\sigma_I^2}{n} \left(\frac{\hat{\delta}^2}{\sigma_I^2/n} \right)}{\sigma_{WR}^2 \left(\frac{M_R}{\sigma_{WR}^2} \right)} \right) \sim \frac{1}{2} \left(\frac{\sigma_I^2}{n\sigma_{WR}^2} F_2 \right), \quad (4.15)$$

$$E_3 = \frac{1}{2} \left(\frac{M_I}{M_T} \right) = \frac{1}{2} \left(\frac{\sigma_I^2 \left(\frac{M_I}{\sigma_I^2} \right)}{\sigma_{WT}^2 \left(\frac{M_T}{\sigma_{WT}^2} \right)} \right) \sim \frac{1}{2} \left(\frac{\sigma_I^2}{\sigma_{WT}^2} F_3 \right), \quad (4.16)$$

$$E_4 = \frac{1}{2} \left(\frac{M_I}{M_R} \right) = \frac{1}{2} \left(\frac{\sigma_I^2 \left(\frac{M_I}{\sigma_I^2} \right)}{\sigma_{WR}^2 \left(\frac{M_R}{\sigma_{WR}^2} \right)} \right) \sim \frac{1}{2} \left(\frac{\sigma_I^2}{\sigma_{WR}^2} F_4 \right), \quad (4.17)$$

$$E_5 = \frac{1}{2} \left(\frac{M_T}{2M_R} \right) = \frac{1}{2} \left(\frac{\sigma_{WT}^2 \left(\frac{M_T}{\sigma_{WT}^2} \right)}{2\sigma_{WR}^2 \left(\frac{M_R}{\sigma_{WR}^2} \right)} \right) \sim \frac{1}{2} \left(\frac{\sigma_{WT}^2}{2\sigma_{WR}^2} F_5 \right), \quad (4.18)$$

$$E_6 = \frac{1}{2} \left(\frac{M_R}{2M_T} \right) = \frac{1}{2} \left(\frac{\sigma_{WR}^2 \left(\frac{M_R}{\sigma_{WR}^2} \right)}{2\sigma_{WT}^2 \left(\frac{M_T}{\sigma_{WT}^2} \right)} \right) \sim \frac{1}{2} \left(\frac{\sigma_{WR}^2}{2\sigma_{WT}^2} F_6 \right). \quad (4.19)$$

Os limites superiores com coeficiente $1 - \alpha$ para cada um dos estimadores E_i com $i = 1, \dots, 6$ são dados por:

$$H_1 = E_1 * (1/F_1(1 - \alpha)), \quad (4.20)$$

$$H_2 = E_2 * (1/F_2(1 - \alpha)), \quad (4.21)$$

$$H_3 = E_3 * (1/F_3(1 - \alpha)), \quad (4.22)$$

$$H_4 = E_4 * (1/F_4(1 - \alpha)), \quad (4.23)$$

$$H_5 = E_5 * (1/F_5(1 - \alpha)), \quad (4.24)$$

$$H_6 = E_6 * (1/F_6(1 - \alpha)). \quad (4.25)$$

E finalmente, o limite superior do IC com coeficiente de confiança $1 - \alpha$ para a DKL (H_{DKL}) é dada por

$$H_{DKL} = \sum_{i=1}^6 E_i + \left(\sum_{i=1}^6 U_i \right)^{1/2} - 3/2, \quad (4.26)$$

onde $U_i = (H_i - E_i)^2$.

Concluimos BEI ao nível de significância α se o limite superior de confiança para DKL da equação 4.26 é menor do que 1,75.

4.2.2 Limite Superior do IC para DKL (DKL-2)

O objetivo desta seção é obter uma estimativa não viciada para DKL e calcular o limite superior do IC utilizando Howe, da mesma forma que na seção anterior.

A- Obtenção do estimador não viciado da DKL

Obtendo a esperança do estimador da equação 4.3 com o objetivo de medir qual o vício da estimativa temos:

$$\begin{aligned} E(\hat{d}(f_T, f_R)) &= \frac{1}{2} \left[E \left(\frac{\frac{\sigma_I^2}{n} \left(\frac{\hat{\delta}^2}{\sigma_I^2/n} \right)}{\sigma_{WT}^2 \left(\frac{M_T}{\sigma_{WT}^2} \right)} \right) + E \left(\frac{\frac{\sigma_I^2}{n} \left(\frac{\hat{\delta}^2}{\sigma_I^2/n} \right)}{\sigma_{WR}^2 \left(\frac{M_R}{\sigma_{WR}^2} \right)} \right) + E \left(\frac{\sigma_I^2 \left(\frac{M_I}{\sigma_I^2} \right)}{\sigma_{WT}^2 \left(\frac{M_T}{\sigma_{WT}^2} \right)} \right) \right] \\ &+ \frac{1}{2} \left[E \left(\frac{\sigma_I^2 \left(\frac{M_I}{\sigma_I^2} \right)}{\sigma_{WR}^2 \left(\frac{M_R}{\sigma_{WR}^2} \right)} \right) + E \left(\frac{\sigma_{WT}^2 \left(\frac{M_T}{\sigma_{WT}^2} \right)}{2\sigma_{WR}^2 \left(\frac{M_R}{\sigma_{WR}^2} \right)} \right) + E \left(\frac{\sigma_{WR}^2 \left(\frac{M_R}{\sigma_{WR}^2} \right)}{2\sigma_{WT}^2 \left(\frac{M_T}{\sigma_{WT}^2} \right)} \right) \right] - \frac{3}{2} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
&= \frac{1}{2} \left[E \left(\frac{\sigma_I^2}{n\sigma_{WT}^2} F_1 \right) + E \left(\frac{\sigma_I^2}{n\sigma_{WR}^2} F_2 \right) + E \left(\frac{\sigma_I^2}{\sigma_{WT}^2} F_3 \right) + E \left(\frac{\sigma_I^2}{\sigma_{WR}^2} F_4 \right) \right] \\
&\quad + \frac{1}{2} \left[E \left(\frac{\sigma_{WT}^2}{2\sigma_{WR}^2} F_5 \right) + E \left(\frac{\sigma_{WR}^2}{2\sigma_{WT}^2} F_6 \right) \right] - \frac{3}{2}, \tag{4.27}
\end{aligned}$$

onde F_1 e F_2 definidos anteriormente possuem distribuição F não-central com 1 e ν graus de liberdade e parâmetro de não centralidade $\frac{\delta^2}{\sigma_I^2/n}$, F_3 , F_4 , F_5 e F_6 possuem distribuição F com ν e ν graus de liberdade.

A esperança de F_1 e F_3 é dada por:

$$\begin{aligned}
E(F_1) &= E(F_2) = \frac{((\delta^2/\sigma_I^2/n) + 1)\nu}{(\nu - 2)}, \\
E(F_3) &= E(F_4) = E(F_5) = E(F_6) = \frac{\nu}{(\nu - 2)}.
\end{aligned}$$

Substituindo na equação 4.27, obtém-se

$$\begin{aligned}
E(\hat{d}(f_T, f_R)) &= \frac{1}{2} \left[\left(\frac{\sigma_I^2}{n\sigma_{WT}^2} \right) \left(\frac{\nu}{(\nu - 2)} \right) \left(\frac{\delta^2}{\sigma_I^2/n} + 1 \right) + \left(\frac{\sigma_I^2}{n\sigma_{WR}^2} \right) \left(\frac{\nu}{(\nu - 2)} \right) \left(\frac{\delta^2}{\sigma_I^2/n} + 1 \right) \right] \\
&\quad + \frac{1}{2} \left[\left(\frac{\sigma_I^2}{\sigma_{WT}^2} \right) \left(\frac{\nu}{(\nu - 2)} \right) + \left(\frac{\sigma_I^2}{\sigma_{WR}^2} \right) \left(\frac{\nu}{(\nu - 2)} \right) + \left(\frac{\sigma_{WT}^2}{2\sigma_{WR}^2} \right) \left(\frac{\nu}{(\nu - 2)} \right) \right] \\
&\quad + \frac{1}{2} \left[\left(\frac{\sigma_{WR}^2}{2\sigma_{WT}^2} \right) \left(\frac{\nu}{(\nu - 2)} \right) - 3/2 \right] \tag{4.28}
\end{aligned}$$

$$E(\hat{d}(f_T, f_R)) = \frac{\nu}{2(\nu - 2)} \left(\frac{\delta^2}{\sigma_{WT}^2} + \frac{\delta^2}{\sigma_{WR}^2} + \frac{(n+1)\sigma_I^2}{n\sigma_{WT}^2} + \frac{(n+1)\sigma_I^2}{n\sigma_{WR}^2} + \frac{\sigma_{WT}^2}{2\sigma_{WR}^2} + \frac{\sigma_{WR}^2}{2\sigma_{WT}^2} \right) - \frac{3}{2}$$

Portanto, um estimador não viciado para 4.3, denominada DKL-2, é dado por:

$$\hat{d}(f_T, f_R) = \frac{(\nu - 2)}{2\nu} \left\{ \frac{\hat{\delta}^2}{M_T} + \frac{\hat{\delta}^2}{M_R} + \frac{(n-1)M_I}{(n)M_T} + \frac{(n-1)M_I}{(n)M_R} + \frac{M_T}{2M_R} + \frac{M_R}{2M_T} \right\} - \frac{3}{2} \tag{4.29}$$

B- Distribuição dos estimadores

Considere agora os estimadores da equação 4.29 que fornece uma estimativa não viciada para DKL:

$$E_1 = \frac{(\nu - 2)}{2\nu} \left(\frac{\hat{\delta}^2}{M_T} \right), \quad (4.30)$$

$$E_2 = \frac{(\nu - 2)}{2\nu} \left(\frac{\hat{\delta}^2}{M_R} \right), \quad (4.31)$$

$$E_3 = \frac{(\nu - 2)(n - 1)}{2\nu(n)} \left(\frac{M_I}{M_T} \right), \quad (4.32)$$

$$E_4 = \frac{(\nu - 2)(n - 1)}{2\nu(n)} \left(\frac{M_I}{M_R} \right), \quad (4.33)$$

$$E_5 = \frac{(\nu - 2)}{2\nu} \left(\frac{M_T}{2M_R} \right), \quad (4.34)$$

$$E_6 = \frac{(\nu - 2)}{2\nu} \left(\frac{M_R}{2M_T} \right). \quad (4.35)$$

$$E_1 = \frac{(\nu - 2)}{2\nu} \left(\frac{\hat{\delta}^2}{M_T} \right) = \frac{(\nu - 2)}{2\nu} \left(\frac{\frac{\sigma_I^2}{n} \left(\frac{\hat{\delta}^2}{\sigma_I^2/n} \right)}{\sigma_{WT}^2 \left(\frac{M_T}{\sigma_{WT}^2} \right)} \right) \sim \frac{(\nu - 2)}{2\nu} \left(\frac{\sigma_I^2}{n\sigma_{WT}^2} F_1 \right), \quad (4.36)$$

$$E_2 = \frac{(\nu - 2)}{2\nu} \left(\frac{\hat{\delta}^2}{M_R} \right) = \frac{(\nu - 2)}{2\nu} \left(\frac{\frac{\sigma_I^2}{n} \left(\frac{\hat{\delta}^2}{\sigma_I^2/n} \right)}{\sigma_{WR}^2 \left(\frac{M_R}{\sigma_{WR}^2} \right)} \right) \sim \frac{(\nu - 2)}{2\nu} \left(\frac{\sigma_I^2}{n\sigma_{WR}^2} F_2 \right), \quad (4.37)$$

$$E_3 = \frac{(\nu - 2)(n - 1)}{2\nu(n)} \left(\frac{M_I}{M_T} \right) = \frac{(\nu - 2)(n - 1)}{2\nu(n)} \left(\frac{\sigma_I^2 \left(\frac{M_I}{\sigma_I^2} \right)}{\sigma_{WT}^2 \left(\frac{M_T}{\sigma_{WT}^2} \right)} \right) \sim \frac{(\nu - 2)(n - 1)}{2\nu(n)} \left(\frac{\sigma_I^2}{\sigma_{WT}^2} F_3 \right), \quad (4.38)$$

$$E_4 = \frac{(\nu - 2)(n - 1)}{2\nu(n)} \left(\frac{M_I}{M_R} \right) = \frac{(\nu - 2)(n - 1)}{2\nu(n)} \left(\frac{\sigma_I^2 \left(\frac{M_I}{\sigma_I^2} \right)}{\sigma_{WR}^2 \left(\frac{M_R}{\sigma_{WR}^2} \right)} \right) \sim \frac{(\nu - 2)(n - 1)}{2\nu(n)} \left(\frac{\sigma_I^2}{\sigma_{WR}^2} F_4 \right), \quad (4.39)$$

$$E_5 = \frac{(\nu - 2)}{2\nu} \left(\frac{M_T}{2M_R} \right) = \frac{(\nu - 2)}{2\nu} \left(\frac{\sigma_{WT}^2 \left(\frac{M_T}{\sigma_{WT}^2} \right)}{2\sigma_{WR}^2 \left(\frac{M_R}{\sigma_{WR}^2} \right)} \right) \sim \frac{(\nu - 2)}{2\nu} \left(\frac{\sigma_{WT}^2}{2\sigma_{WR}^2} F_5 \right), \quad (4.40)$$

$$E_6 = \frac{(\nu - 2)}{2\nu} \left(\frac{M_R}{2M_T} \right) = \frac{(\nu - 2)}{2\nu} \left(\frac{\sigma_{WR}^2 \left(\frac{M_R}{\sigma_{WR}^2} \right)}{2\sigma_{WT}^2 \left(\frac{M_T}{\sigma_{WT}^2} \right)} \right) \sim \frac{(\nu - 2)}{2\nu} \left(\frac{\sigma_{WR}^2}{2\sigma_{WT}^2} F_6 \right), \quad (4.41)$$

Os limites superiores do IC com coeficiente $1 - \alpha$ para cada um dos estimadores E_i com $i = 1, \dots, 6$ são dados pelas equações 4.20 a 4.25. E o limite superior do IC de confiança $1 - \alpha$ para a DKL-2 (H_{DKL}) é dada pela equação 4.26.

Concluimos BEI ao nível de significância α se o limite superior de confiança para DKL-2 da equação 4.26 é menor do que 1,75.

4.2.3 Algoritmo para verificar BEI para DKL-2

1. Obtenha os estimadores $\hat{\delta}$, M_I , M_T e M_R fornecidos pelas equações 3.23, 3.25, 3.36 e 3.37;
2. Substitua os valores obtidos nas equações 4.30 a 4.35;
3. Obtenha os limites superiores de confiança das estimativas através das equações 4.20 a 4.25;
4. Conclua BEI ao nível de significância α se o valor calculado para H_{DKL} na equação 4.26 é menor do que 1,75.

4.2.4 Algoritmo para Poder do Teste para DKL-1

O poder do teste para DKL, que fornece uma estimativa viciada para DKL quando a amostra é pequenas é obtido da seguinte forma:

1. Especifique δ , σ_D^2 , σ_{WT}^2 , σ_{WR}^2 , n_1 e n_2 ;
2. Gere valores das distribuições F_1 a F_6 ;
3. Substitua os valores obtidos nas equações 4.14 a 4.19;
4. Obtenha os limites superiores de confiança das estimativas através das equações 4.20 a 4.25;
5. Conclua BEI ao nível de significância α se o valor calculado para H_{DKL} na equação 4.26 é menor do que 1,75;
6. Repita os passos anteriores 5000 vezes;
7. O poder do Teste corresponde a proporção das simulações que resultaram em BEI.

4.2.5 Algoritmo para Poder do Teste para DKL-2

Para a DKL-2 o poder do teste é dado por:

1. Especifique δ , σ_D^2 , σ_{WT}^2 , σ_{WR}^2 , n_1 e n_2 ;

2. Gere valores das distribuições F_1 a F_6 ;
3. Substitua os valores obtidos nas equações 4.36 a 4.41;
4. Obtenha os limites superiores de confiança das estimativas através das equações 4.20 a 4.25;
5. Conclua BEI ao nível de significância α se o valor calculado para H_{DKL} na equação 4.26 é menor do que 1,75;
6. Repita os passos anteriores 5000 vezes;
7. O poder do Teste corresponde a proporção das simulações que resultaram em BEI.

4.3 Tamanho e Poder do Teste

O objetivo de um estudo de BE é avaliar se duas drogas são bioequivalentes através de teste de hipóteses, onde a hipótese nula é que as drogas não são bioequivalentes e a hipótese alternativa que as drogas são bioequivalentes. O poder do teste corresponde a probabilidade de rejeitar não bioequivalência dado que as drogas são bioequivalentes. Um bom teste tem como característica possuir uma probabilidade de cobertura de pelo menos 95% e também deve possuir poder alto. O poder do teste deve ser avaliado empiricamente através de simulações, pois as distribuições dos critérios para avaliar BEI são desconhecidas. As simulações foram efetuadas utilizando 5000 conjuntos de dados para cada combinação do parâmetro descrito na tabela 4.3. De acordo com Hyslop[30], isto garante um erro de $\pm 1.1\%$. A simulação é baseada em um planejamento *crossover* 2x4 com n indivíduos em cada seqüência. Para comparar Poder do Teste para verificar BEI selecionamos alguns dos métodos apresentados nos capítulos 2 e 3 e a proposta para DKL não viciada para pequenas amostras.

Tabela 4.1: Tamanho do Teste Estimado para Métodos de Hyslop e DKL-2

$\sigma_D = 0,01$																	
$\delta = 0,12$									$\delta = 0,25$								
$\sigma_{WT} = 0,15$		$\sigma_{WT} = 0,20$		$\sigma_{WT} = 0,3$		$\sigma_{WT} = 0,50$		n	$\sigma_{WT} = 0,15$		$\sigma_{WT} = 0,20$		$\sigma_{WT} = 0,3$		$\sigma_{WT} = 0,50$		n
HSCI	DKL-2	HSCI	DKL-2	HSCI	DKL-2	HSCI	DKL-2		HSCI	DKL-2	HSCI	DKL-2	HSCI	DKL-2	HSCI	DKL-2	
0,846	0,034	0,494	0,163	0,383	0,401	0,412	0,573	6	0,248	0	0,149	0,0004	0,248	0,024	0,356	0,271	6
0,998	0,004	0,873	0,079	0,712	0,452	0,763	0,786	12	0,500	0	0,258	0	0,465	0,002	0,675	0,223	12
1,0	0,0006	0,974	0,026	0,872	0,396	0,906	0,867	18	0,663	0	0,347	0	0,628	0,0002	0,840	0,129	18
1,0	0	0,996	0,0086	0,945	0,334	0,967	0,894	24	0,784	0	0,439	0	0,742	0	0,924	0,07	24
$\delta = 0,30$									$\delta = 0,50$								
$\sigma_{WT} = 0,15$		$\sigma_{WT} = 0,20$		$\sigma_{WT} = 0,3$		$\sigma_{WT} = 0,50$		n	$\sigma_{WT} = 0,15$		$\sigma_{WT} = 0,20$		$\sigma_{WT} = 0,3$		$\sigma_{WT} = 0,50$		n
HSCI	DKL-2	HSCI	DKL-2	HSCI	DKL-2	HSCI	DKL-2		HSCI	DKL-2	HSCI	DKL-2	HSCI	DKL-2	HSCI	DKL-2	
0,064	0	0,066	0	0,187	0,003	0,330	0,163	6	0	0	0	0	0,03	0	0,188	0,003	6
0,107	0	0,085	0	0,349	0	0,620	0,079	12	0	0	0	0	0,032	0	0,349	0	12
0,131	0	0,094	0	0,472	0	0,789	0,027	18	0	0	0	0	0,027	0	0,473	0	18
0,155	0	0,101	0	0,571	0	0,887	0,008	24	0	0	0	0	0,024	0	0,572	0	24
$\sigma_D = 0,10$																	
$\delta = 0,12$									$\delta = 0,25$								
$\sigma_{WT} = 0,15$		$\sigma_{WT} = 0,20$		$\sigma_{WT} = 0,3$		$\sigma_{WT} = 0,50$		n	$\sigma_{WT} = 0,15$		$\sigma_{WT} = 0,20$		$\sigma_{WT} = 0,3$		$\sigma_{WT} = 0,50$		n
HSCI	DKL-2	HSCI	DKL-2	HSCI	DKL-2	HSCI	DKL-2		HSCI	DKL-2	HSCI	DKL-2	HSCI	DKL-2	HSCI	DKL-2	
0,608	0,050	0,349	0,157	0,339	0,368	0,396	0,553	6	0,140	0	0,104	0,0006	0,213	0,031	0,340	0,266	6
0,946	0,013	0,702	0,095	0,650	0,425	0,740	0,766	12	0,266	0	0,166	0	0,408	0,003	0,652	0,226	12
0,994	0,002	0,885	0,041	0,823	0,392	0,890	0,852	18	0,356	0	0,211	0	0,556	0,0004	0,819	0,135	18
0,999	0,0002	0,960	0,014	0,912	0,333	0,957	0,886	24	0,445	0	0,263	0	0,671	0	0,909	0,075	24
$\delta = 0,30$									$\delta = 0,50$								
$\sigma_{WT} = 0,15$		$\sigma_{WT} = 0,20$		$\sigma_{WT} = 0,3$		$\sigma_{WT} = 0,50$		n	$\sigma_{WT} = 0,15$		$\sigma_{WT} = 0,20$		$\sigma_{WT} = 0,3$		$\sigma_{WT} = 0,50$		n
HSCI	DKL-2	HSCI	DKL-2	HSCI	DKL-2	HSCI	DKL-2		HSCI	DKL-2	HSCI	DKL-2	HSCI	DKL-2	HSCI	DKL-2	
0,043	0	0,048	0	0,164	0,004	0,316	0,165	6	0	0	0,0002	0	0,024	0	0,176	0,004	6
0,049	0	0,055	0	0,302	0	0,595	0,084	12	0	0	0	0	0,023	0	0,329	0	12
0,056	0	0,059	0	0,409	0	0,769	0,028	18	0	0	0	0	0,022	0	0,451	0	18
0,049	0	0,055	0	0,504	0	0,873	0,009	24	0	0	0	0	0,020	0	0,548	0	24

Tabela 4.2: Tamanho do Teste Estimado para Métodos de Hyslop e DKL-2

$\sigma_D = 0,15$																
$\delta = 0,12$								$\delta = 0,25$								
$\sigma_{WT} = 0,15$		$\sigma_{WT} = 0,20$		$\sigma_{WT} = 0,3$		$\sigma_{WT} = 0,50$		$\sigma_{WT} = 0,15$		$\sigma_{WT} = 0,20$		$\sigma_{WT} = 0,3$		$\sigma_{WT} = 0,50$		
n	HSCI	DKL-2	HSCI	DKL-2	HSCI	DKL-2	HSCI	DKL-2	HSCI	DKL-2	HSCI	DKL-2	HSCI	DKL-2	HSCI	DKL-2
6	0,362	0,046	0,233	0,131	0,284	0,325	0,375	0,530	0,075	0,0002	0,069	0,001	0,182	0,038	0,321	0,260
12	0,724	0,014	0,482	0,090	0,568	0,389	0,714	0,744	0,116	0	0,095	0	0,348	0,004	0,617	0,230
18	0,898	0,004	0,669	0,048	0,739	0,369	0,874	0,835	0,148	0	0,118	0	0,478	0,0004	0,795	0,140
24	0,965	0,0006	0,796	0,020	0,857	0,323	0,945	0,870	0,172	0	0,129	0	0,585	0	0,891	0,081
$\delta = 0,30$																
$\delta = 0,30$								$\delta = 0,50$								
$\sigma_{WT} = 0,15$		$\sigma_{WT} = 0,20$		$\sigma_{WT} = 0,3$		$\sigma_{WT} = 0,50$		$\sigma_{WT} = 0,15$		$\sigma_{WT} = 0,20$		$\sigma_{WT} = 0,3$		$\sigma_{WT} = 0,50$		
n	HSCI	DKL-2	HSCI	DKL-2	HSCI	DKL-2	HSCI	DKL-2	HSCI	DKL-2	HSCI	DKL-2	HSCI	DKL-2	HSCI	DKL-2
6	0,025	0	0,032	0,0002	0,138	0,007	0,291	0,164	0	0	0,0006	0	0,021	0	0,167	0,005
12	0,022	0	0,033	0	0,253	0,0002	0,568	0,087	0	0	0	0	0,021	0	0,309	0
18	0,020	0	0,031	0	0,338	0	0,742	0,034	0	0	0	0	0,016	0	0,423	0
24	0,015	0	0,029	0	0,418	0	0,849	0,011	0	0	0	0	0,017	0	0,516	0

As tabelas 4.1 e 4.2 apresentam o tamanho do teste, i.e., a taxa de falsa rejeição para os métodos de Hyslop (HSCI) e DKL-2 para 192 combinações distintas dos parâmetros.

O método de Hyslop considera que os medicamentos T e R são bioequivalentes para os casos em que $\delta = 0, 12$. Ao contrário, o método DKL-2 considera que T e R não são bioequivalentes para uma pequena diferença nas médias e esta conclusão depende fortemente da variabilidade intra-indivíduo. Analisando as tabelas 4.1 e 4.2 para todas as combinações com $\delta = 0, 12$, nota-se que o método de DKL-2 avalia que T e R são bioequivalentes somente quando a droga possui alta variabilidade ($\sigma_{WT} = 0, 50$). Pode-se notar ainda, que para todos os casos analisados o aumento da interação droga x indivíduo (σ_D) causa uma diminuição do tamanho do teste tanto para HSCI quanto para DKL-2.

Os métodos de Hyslop e DKL-2 são similares em avaliar que T e R não são bioequivalentes para os seguintes casos: ($\sigma_D = 0, 01; 0, 10; 0, 15$ para $\delta = 0, 30, \sigma_{WT} = 0, 30; 0, 50$ e $\delta = 0, 50, \sigma_{WT} = 0, 15; 0, 20; 0, 30$). Note-se ainda que o método DKL-2 possui poder do teste maior que o método de Hyslop quando ($\sigma_D = 0, 01; 0, 10; 0, 15$ para $\delta = 0, 12, \sigma_{WT} = 0, 50$ e $n = 6$ e 12).

4.3.1 Comparação com outros Métodos de BEI

Foram selecionados 4 métodos de BEI para comparação do Poder do Teste:

- 1) FDA-Bootstrap-Percentil
- 2) Hyslop
- 3) DKL-Bootstrap-Percentil
- 4) DKL-2

A seguir é descrito como as simulações de cada método foram realizadas.

FDA-Bootstrap Percentil

Como este método é baseado na reamostragem Bootstrap é necessário gerar os dados para a resposta da medida farmacocinética.

Considere a resposta da medida de BD, $Y_{ij} = [Y_{ijT1} \ Y_{ijT2} \ Y_{ijR1} \ Y_{ijR2}]$ tem média $X_i\beta$ e variância dada por:

$$Var(Y_{ij}) = \Sigma_i = \begin{bmatrix} \sigma_{BT}^2 J_{2 \times 2} + \sigma_{WT}^2 I_{2 \times 2} & \sigma_{TR}^2 J_{2 \times 2} \\ \sigma_{TR}^2 J_{2 \times 2} & \sigma_{BR}^2 J_{2 \times 2} + \sigma_{WR}^2 I_{2 \times 2} \end{bmatrix}$$

onde:

$\beta_{8 \times 1}$ é o vetor de efeitos fixos;

X_i a matriz de planejamento de dimensão 4×8 ;

$J_{2 \times 2}$ é matriz de 1's com dimensão 2×2 ;

$I_{2 \times 2}$ é matriz identidade com dimensão 2×2 ;

$$\sigma_{TR}^2 = \rho \sigma_{BT} \sigma_{BR}.$$

Os dados para cada indivíduo na sequência i definido por Y_{ij} são gerados utilizando a seguinte sugestão de Kimanani et.al. em [33]:

$$Y_{ij} = X_i \beta + (\Sigma_i)^{1/2} N_4(0, 1)$$

onde:

$(\Sigma_i)^{1/2}$ é obtida através da decomposição de Cholesky;

$N_4(0, 1)$ corresponde ao vetor de dimensão 4×1 da distribuição Normal padrão.

Os dados Y_{ij} são gerados 5000 vezes e para cada uma desta simulação os estimadores da equação 2.30 são obtidos de acordo com procedimento descrito por Hyslop. O intervalo de confiança bootstrap-percentil foi obtido utilizando 2000 reamostragens conforme procedimento descrito na seção 2.3.5.

O poder do teste é obtido como a proporção das simulações em que o intervalo bootstrap-percentil com coeficiente de 95% é menor do que 2,49.

Hyslop

A geração dos dados é a mesma do procedimento descrito na seção anterior para o método FDA-Bootstrap-Percentil.

O limite superior com 95% de confiança foi calculado conforme procedimento descrito na seção 3.3.3. O poder do teste é calculado como a proporção de simulações em que H_{η_1} ou H_{η_2} é menor o que zero.

Este método é de fácil implementação, não necessita de uso intensivo do computador e é um procedimento mais eficiente do que o método bootstrap-percentil para determinar BEI para os parâmetros analisados.

DKL-Bootstrap Percentil

Para este método os dados e os estimadores da equação 3.65 foram obtidos de forma semelhante ao método FDA-Bootstrap-Percentil. Para cada um dos 5000 conjuntos de dados gerados foi obtido o intervalo de confiança bootstrap-percentil com coeficiente de 95% através de 2000 reamostragens.

Neste caso, o poder do teste é obtido como a proporção das simulações em que o intervalo bootstrap-percentil com coeficiente de 95% é menor do que 1,75.

Tabela 4.3: Comparativo de Poder do Teste

Método	σ_D	n	$\sigma_{WT} = \sigma_{WR} = 0,15$	$\sigma_{WT} = \sigma_{WR} = 0,2$	$\sigma_{WT} = \sigma_{WR} = 0,3$	$\sigma_{WT} = \sigma_{WR} = 0,5$
			Poder	Poder	Poder	Poder
FDA-Bootstrap $\delta = 0,05$	0,01	8	1,0	0,582	0,579	0,568
		12	1,0	0,764	0,743	0,756
		16	1,0	0,864	0,864	0,863
	0,10	8	1,0	0,474	0,548	0,560
		12	1,0	0,635	0,699	0,745
		16	1,0	0,763	0,815	0,847
	0,15	8	1,0	0,344	0,467	0,545
		12	1,0	0,485	0,633	0,714
		16	1,0	0,582	0,760	0,832
	0,01	8	0,991	0,807	0,574	0,579
		12	1,0	0,955	0,777	0,783
		16	1,0	0,991	0,885	0,890
Hyslop	0,10	8	0,909	0,633	0,514	0,556
		12	0,990	0,851	0,715	0,762
		16	0,999	0,949	0,833	0,874
	0,15	8	0,676	0,433	0,440	0,532
		12	0,883	0,644	0,632	0,736
		16	0,962	0,790	0,764	0,851
	0,01	8	0,489	0,499	0,495	0,482
		12	0,746	0,751	0,731	0,739
		16	0,876	0,880	0,872	0,868
	0,10	8	0,254	0,343	0,421	0,453
		12	0,426	0,546	0,636	0,713
		16	0,550	0,697	0,799	0,849
DKL-Bootstrap	0,15	8	0,098	0,205	0,334	0,423
		12	0,155	0,328	0,530	0,668
		16	0,216	0,450	0,707	0,814
	0,01	8	0,555	0,663	0,732	0,759
		12	0,607	0,769	0,861	0,888
		16	0,622	0,833	0,932	0,954
	0,10	8	0,360	0,528	0,663	0,736
		12	0,421	0,639	0,805	0,870
		16	0,460	0,718	0,892	0,943
	0,15	8	0,187	0,372	0,584	0,700
		12	0,210	0,459	0,722	0,845
		16	0,215	0,533	0,822	0,930
DKL-2	0,01	8	0,555	0,663	0,732	0,759
		12	0,607	0,769	0,861	0,888
		16	0,622	0,833	0,932	0,954
	0,10	8	0,360	0,528	0,663	0,736
		12	0,421	0,639	0,805	0,870
		16	0,460	0,718	0,892	0,943
	0,15	8	0,187	0,372	0,584	0,700
		12	0,210	0,459	0,722	0,845
		16	0,215	0,533	0,822	0,930

Tabela 4.4: Comparativo de Poder do Teste

Método	σ_D	n	$\sigma_{WT} = \sigma_{WR} = 0,15$	$\sigma_{WT} = \sigma_{WR} = 0,2$	$\sigma_{WT} = \sigma_{WR} = 0,3$	$\sigma_{WT} = \sigma_{WR} = 0,5$
			Poder	Poder	Poder	Poder
FDA-Bootstrap	0,01	8	1,0	0,572	0,577	0,583
		12	1,0	0,750	0,762	0,757
		16	1,0	0,868	0,861	0,866
	0,10	8	1,0	0,466	0,532	0,575
		12	1,0	0,631	0,703	0,734
		16	1,0	0,753	0,817	0,836
	0,15	8	1,0	0,342	0,477	0,538
		12	1,0	0,479	0,637	0,719
		16	1,0	0,588	0,760	0,822
Hyslop	0,01	8	0,972	0,718	0,539	0,570
		12	0,999	0,909	0,740	0,772
		16	1,0	0,975	0,854	0,881
	0,10	8	0,835	0,548	0,477	0,543
		12	0,971	0,764	0,674	0,750
		16	0,994	0,884	0,802	0,863
	0,15	8	0,573	0,361	0,412	0,519
		12	0,789	0,543	0,590	0,722
		16	0,905	0,676	0,724	0,840
DKL-Bootstrap	0,01	8	0,476	0,490	0,493	0,484
		12	0,738	0,737	0,750	0,739
		16	0,881	0,865	0,879	0,873
	0,10	8	0,250	0,341	0,421	0,463
		12	0,412	0,553	0,654	0,705
		16	0,550	0,702	0,796	0,854
	0,15	8	0,102	0,201	0,341	0,425
		12	0,153	0,342	0,552	0,675
		16	0,204	0,441	0,700	0,818
DKL-2	0,01	8	0,075	0,271	0,558	0,711
		12	0,031	0,224	0,609	0,834
		16	0,011	0,155	0,622	0,905
	0,10	8	0,086	0,244	0,504	0,687
		12	0,050	0,222	0,569	0,814
		16	0,027	0,169	0,591	0,889
	0,15	8	0,062	0,188	0,447	0,657
		12	0,042	0,183	0,508	0,792
		16	0,023	0,144	0,544	0,869

Analisando as tabelas 4.3 e 4.4, temos que os métodos FDA-Bootstrap e Hyslop são similares quando $\sigma_{WT} = 0,15$, exceto quando $\sigma_D = 0,15$, neste caso, o método de Hyslop tem um decréscimo do poder do teste. Nota-se ainda que o método FDA-Bootstrap tem poder baixo próximo ao ponto de mudança $\sigma_{WT} = 0,2$ para os casos em que ($\sigma_D = 0,01; 0,10$ para $n = 8$ e $\sigma_D = 0,15$ para $n = 8; 12; 16$). Já o método de Hyslop apresentou poder do teste superior ao FDA-Bootstrap em praticamente todas as combinações analisadas.

Comparando agora os métodos DKL-Bootstrap e DKL-2, nota-se que o método DKL-2 apresenta maior poder do teste para os casos em que $\sigma_{WT} = 0,2; 0,30; 0,50$. Ao considerarmos o número mínimo de indivíduos recomendado, $n = 12$, temos um poder do teste de aproximadamente 80% para a DKL-2 quando a droga possui alta variabilidade $\sigma_{WT} = 0,5$. Ao aumentarmos a diferença de médias entre T e R, $\delta = 0,05$ para $\delta = 0,10$, notamos que os métodos FDA-Bootstrap e DKL-Bootstrap sofrem em alguns casos uma pequena alteração do poder do teste. Enquanto que, os métodos baseados na aproximação de Howe, Hyslop e DKL-2, têm um decréscimo maior no valor do poder do teste.

O método DKL-2 apresenta poder do teste maior que o método de Hyslop quando $\delta = 0,05$ e $\sigma_{WT} = 0,30; 0,50$, e $\delta = 0,10$ e $\sigma_{WT} = 0,50$. Pois, considerando que T e R são bioequivalentes, o método DKL-2 permite uma pequena diferença nas médias de T e R ($\delta = 0,05$ e $\delta = 0,10$) somente quando a droga possui alta variabilidade.

Devido ao tamanho de amostra utilizado na simulação, a DKL-2 possui melhores estimativas para o poder comparado a DKL-1. Para os casos em que a droga possui alta variabilidade, existe pouca diferença em relação ao poder mesmo com a introdução da interação e diferença de médias entre as drogas. Assim, este método depende fortemente da variação intra-indivíduo para concluir BEI.

Dragalin, et.al. em [14] analisaram BEI para 22 conjuntos de dados distintos utilizando os métodos de FDA-Bootstrap-Percentil e DKL-Bootstrap-Percentil. O método DKL resultou em BEI para somente 9 dos 22 dados analisados, enquanto que, FDA resultou em BEI para 20 destes dados. Zariffa em [59] utilizou estes mesmos dados para verificar BEI utilizando o método de Hyslop e concluiu BEI também para 20 dos 22 conjuntos de dados analisados.

Assim, podemos concluir que a medida de DKL apresenta problemas para assegurar BEI quando a droga possui baixa variabilidade, pois é mais difícil assegurar bioequivalência quando a droga possui janela terapêutica estreita. Neste caso, a DKL identifica uma pequena diferença entre as

características: média, interação droga x indivíduo e variabilidade intra-indivíduo. Enquanto que, os métodos de Hyslop e FDA utilizam a escala-constante como "correção" para assegurar BEI, e só apresentam problemas quando σ_{WR}^2 está próximo ao ponto de mudança especificado por 0,04.

Devido aos valores obtidos para DKL-2, selecionamos o cenário em que $n = 15$, $\delta = 0,10$, $\sigma_{WT} = \sigma_{WR} = 0,30$, e $\sigma_D = 0,01$, i.e., a droga possui diferença entre as médias e alta variabilidade, para verificar possíveis influências no limite superior de 95% para os métodos DKL-2 e Hyslop.

As figuras 4.1 a 4.3 apresentam a relação entre o IC de 95% para DKL-2 e E_1 , E_2 , E_3 , E_4 , E_5 e E_6 obtidos através das equações 4.30 a 4.35. Devido a suposição de $\sigma_{WT} = \sigma_{WR}$, as simulações de E_1 e E_2 , E_3 e E_4 e para E_5 e E_6 são semelhantes. Nota-se que E_3 e E_4 apresentam grande contribuição para que o limite superior de confiança para DKL-2 seja maior do que 1,75.

Considerando agora as figuras 4.4 e 4.5, que apresentam a relação entre o IC de 95% para o método de Hyslop e E_D , E_I , E_T e E_R . Nota-se que a contribuição de cada um dos componentes é bastante baixa, e como o método utiliza a escala referência 82,2% das 5000 simulações resultaram em BEI.

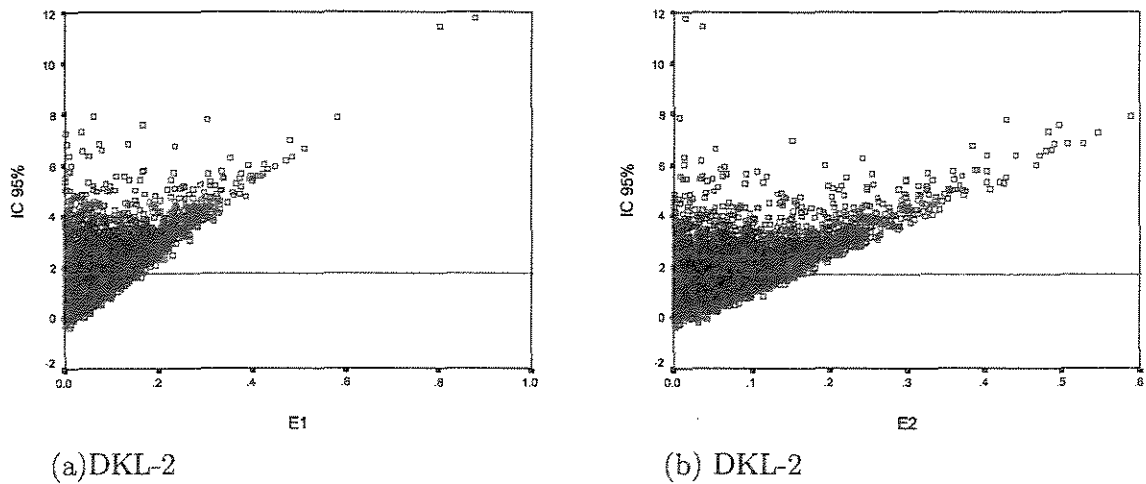
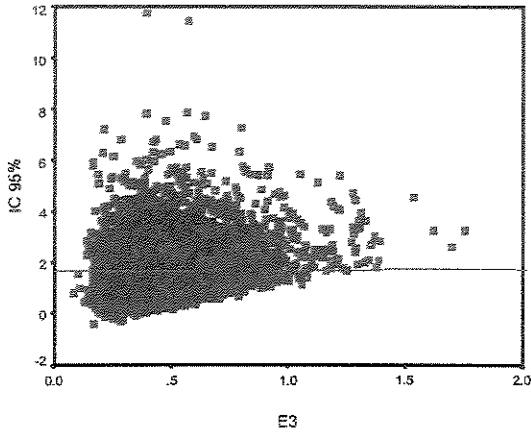
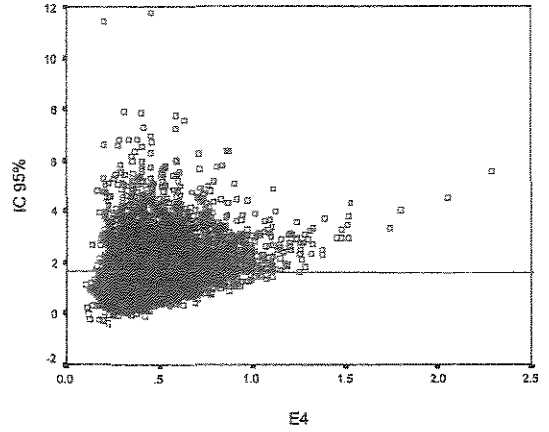


Figura 4.1: Relação entre o limite superior de 95% e os componentes E_1 e E_2 com $n = 15$, $\sigma_{WT} = \sigma_{WR} = 0,30$, $\delta = 0,10$ e $\sigma_D = 0,01$

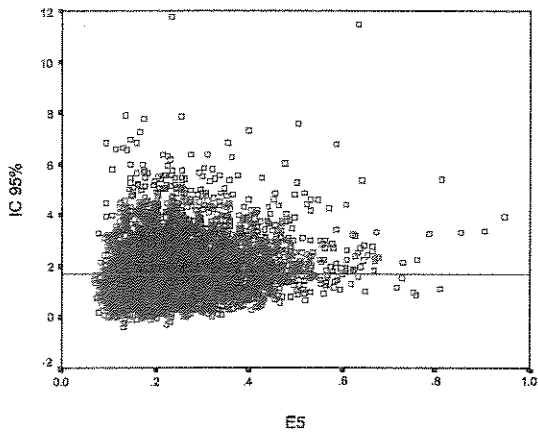


(a)DKL-2

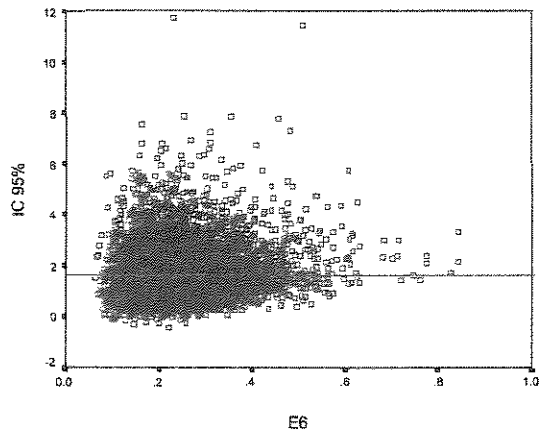


(b) DKL-2

Figura 4.2: Relação entre o limite superior de 95% e os componentes E_3 e E_4 com $n = 15$, $\sigma_{WT} = \sigma_{WR} = 0,30$, $\delta = 0,10$ e $\sigma_D = 0,01$

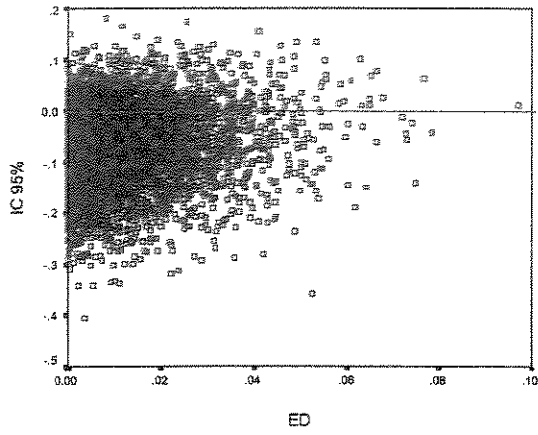


(a)DKL-2

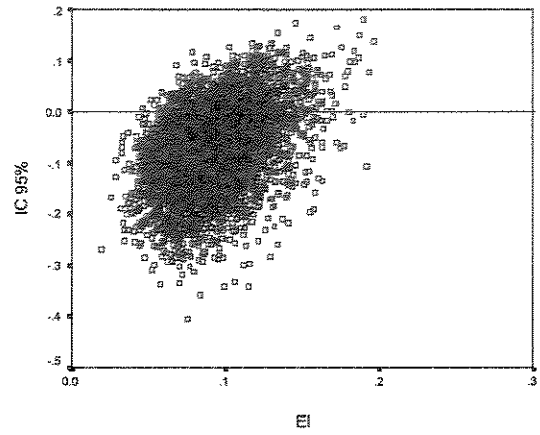


(b) DKL-2

Figura 4.3: Relação entre o limite superior de 95% e os componentes E_5 e E_6 com $n = 15$, $\sigma_{WT} = \sigma_{WR} = 0,30$, $\delta = 0,10$ e $\sigma_D = 0,01$

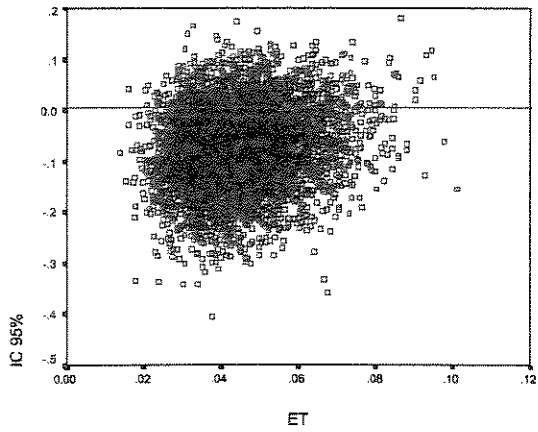


(a) Hyslop

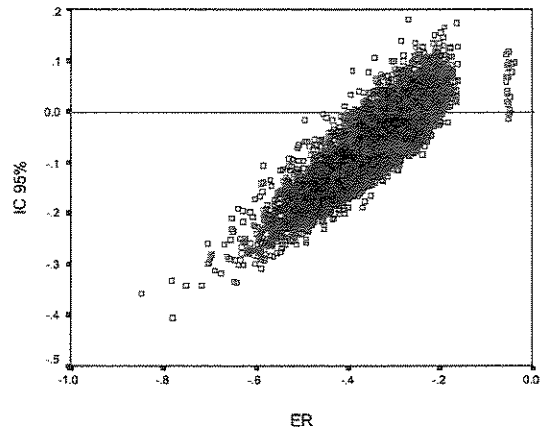


(b) Hyslop

Figura 4.4: Relação entre o limite superior de 95% e os componentes E_D e E_I com $n = 15$, $\sigma_{WT} = \sigma_{WR} = 0,30$, $\delta = 0,10$ e $\sigma_D = 0,01$



(a) Hyslop



(b) Hyslop

Figura 4.5: Relação entre o limite superior de 95% e os componentes E_T e E_R com $n = 15$, $\sigma_{WT} = \sigma_{WR} = 0,30$, $\delta = 0,10$ e $\sigma_D = 0,01$

4.4 Poder dos Dados Reais

Analisamos também o poder do teste considerando as estimativas dos parâmetros obtidos de dados reais abordados na seção 3.6.

Para Dados-Albert, conforme verificado na seção 3.6, T e R não são BEI. Analisando a tabela 4.5 nota-se que o tamanho do teste para o método de Hyslop é 0,024. Enquanto que, para DKL-2 o valor obtido é 0,096. Como o valor encontrado para DKL está acima do nível de falsa rejeição de 5% permitido é recomendável realizar mais estudos para verificar a eficiência do teste quando as variabilidades intra-indivíduo são bastante distintas.

Para Dados-Droga17a, ao verificar BEI houve métodos que asseguravam que T e R são BEI, enquanto que outros métodos asseguravam não-BEI. Através dos valores obtidos na tabela 4.5, iremos supor que T e R são BEI. Neste caso, os métodos de Hyslop e DKL-2 apresentam poder de 0,448 e 0,775, respectivamente.

Com relação a Dados-Phenytoin, os medicamentos T e R são BEI para todos os métodos analisados na seção 3.6.2, exceto para DKL. De acordo com os resultados obtidos para dados simulados de poder do teste, nota-se que a DKL apresenta problemas quando a droga possui baixa variabilidade intra-indivíduo tanto para intervalo de confiança bootstrap quanto alternativo. Em relação a este conjunto de dados não ocorreu este tipo de problema, e o poder do teste para os métodos de Hyslop e DKL-2 são 0,999 e 0,818, respectivamente.

Tabela 4.5: Poder do Teste para Métodos de Hyslop e DKL-2 para Dados Reais

Dados	Hyslop	DKL-2
Albert	0,024	0,096
Droga17a	0,448	0,775
Phenytoin	0,999	0,818

4.5 Implementação dos Métodos

Para implementação dos métodos utilizamos o software SAS versão 8.02 em uma máquina Pentium 4 com 512MB de memória RAM e processador de 1.8Hz em ambiente Windows XP.

Todos os métodos para verificar BEI foram implementados em SAS. Com relação ao Poder do Teste os métodos de VPG, FDA-Bootstrap Percentil e Kullback-Leibler foram implementados na linguagem Java, pois estes métodos requerem recursos computacionais intensivos e devido a restrição de memória não foi possível utilizar o SAS.

No apêndice D apresentamos os programas dos métodos DKL-2 e Hyslop para verificar BEI e Poder do Teste.

Conclusões

É inquestionável que a introdução de medicamentos genéricos no Brasil trouxe grandes benefícios para a saúde pública. Mas, o método de BEM utilizado atualmente apresenta problemas em verificar bioequivalência quando os medicamentos possuem alta variabilidade.

Um dos problemas do método de BEM é que este método só compara as médias das distribuições de T e R, não levando em consideração a variabilidade da droga. De forma que, pode ocorrer casos de drogas com variabilidade bastante distintas e médias equivalentes. É recomendável ainda verificar se existe presença da interação droga x indivíduo, mas para isto é necessário utilizar um planejamento *crossover* de ordem superior.

O planejamento *crossover* de ordem superior tem como vantagem permitir estimar a variância intra-indivíduo e a interação droga x indivíduo. A aplicação deste tipo de planejamento em BEI pode reduzir custos do estudo e tem como vantagem reduzir o número de indivíduos expostos aos medicamentos.

Chen et.al. em [8] discute a importância do componente da interação droga x indivíduo na avaliação de BE, pois em aproximadamente 30 a 40% dos dados analisados de *crossover* de ordem superior para *ASC* ou *C_{max}* foi encontrado σ_D maior do que 0,15.

Existe pouco dados disponíveis de *crossover* 2x4 para se realizar um estudo sobre as vantagens e desvantagens do método de BEI em relação ao método de BEM. Uma sugestão para estudo seria simular dados com parâmetros de medicamentos que apresentaram problemas com relação a eficácia e segurança, e verificar o poder e tamanho do teste para alguns métodos de BEI. Devido a ausência de estudo, não há comprovações práticas em quais condições o método BEI é melhor que o método BEM para assegurar bioequivalência. Entretanto, intercambiabilidade entre os medicamentos só é assegurada utilizando o método de BEI, e o método de BEI tem grandes vantagens em relação a BEM quando a variabilidade da droga é alta.

Conforme abordado no capítulo 2, o método de BEI pode ser avaliado através do método baseado em momento ou probabilidade. Pode-se notar que o método baseado em probabilidade possui como benefício a interpretabilidade. Enquanto que, o método baseado em momento tem como vantagem a contribuição de cada componente.

Em relação ao critério desagregado, temos a propriedade hierárquica de que $BEI \rightarrow BEP \rightarrow BEM$ e cada um dos componentes do critério são testados separadamente, respeitando o limite de especificação de cada componente. Entretanto, é necessário efetuar múltiplos testes e também deve haver um acompanhamento da agência reguladora para especificar os múltiplos limites de bioequivalência.

Além disso, ao efetuar comparações separadas de médias e variâncias, o critério desagregado ignora o conceito de *switchability*, avaliado através da janela terapêutica individual para as drogas T e R.

A medida de DKL avalia as componentes do critério conjuntamente e possui a mesma propriedade hierárquica do critério desagregado e ainda 1) satisfaz as propriedades de distância métrica 2) é invariante para transformações monótonas dos dados 3) pode ser generalizado para caso multivariado e 4) é aplicável para qualquer distribuição pertencente a família exponencial. Pode ser avaliada através do método Bootstrap-percentil, que requer computação intensiva e introduz aleatoriedade no limite superior ou através da aproximação de Howe.

A aproximação de Howe baseada na expansão de Cornish-Fisher tem precisão de 2^0 ordem. Enquanto que, a maioria das aproximações assintóticas tem erros da ordem de $O_p(n^{-1/2})$, onde n corresponde ao número de indivíduos do estudo. Segundo Hsuan et al. em [29], o limite superior de 95% para Hyslop satisfaz $P(\eta < H_\eta) = 0,95 + O_p(n^{-1})$. Note que uma amostra de tamanho 6 com ordem $O_p(n^{-1})$ pode ter o mesmo grau de precisão que uma amostra de tamanho 36 com ordem $O_p(n^{-1/2})$.

Assim, a proposta DKL-2 possui as mesmas propriedades da medida DKL e ainda assegura uma boa precisão para verificar BEI.

Com o objetivo de verificar a funcionalidade da propriedade hierárquica do método DKL-1 e DKL-2, simulamos um conjunto de dados com parâmetros fornecidos em [59] que resultou em BEI pelo método de Hyslop e não BEM utilizando intervalo de confiança clássico.

O estudo tem 48 indivíduos em cada uma das seqüências, onde foi administrado RTTR e TRRT para as seqüências 1 e 2 com parâmetros: $\sigma_D = 0,34$, $\sigma_{WT} = 0,59$, $\sigma_{WR} = 0,46$ e $\delta = -0,198$.

A estimativa para a razão das médias geométricas é 0,82 com intervalo de confiança de 90% [0,74; 0,91], como esta fora do intervalo de BE [0,80; 1,25] não concluímos BEM. Com relação ao método de Hyslop, o limite superior de 95% de confiança resultou em -0,183, portanto T e R são BEI. O poder para o método de Hyslop foi de 0,53, enquanto que para DKL-1 e DKL-2 foi de 0,046 e 0,043. Assim, os métodos baseados na DKL rejeitam BEI entre T e R quando a diferença entre as médias de T e R é considerada alta para as variabilidades de T e R obtidas.

Podemos concluir que, a medida de DKL utilizando Bootstrap-percentil ou aproximação de Howe é sensível a mudança na média e na presença de interação droga x indivíduo. Possui como propriedade identificar pequenas diferenças entre as respostas individuais de T e R quando a droga possui baixa variabilidade. Além disso, notamos que a verificação de BEI entre T e R depende fortemente da variabilidade intra-indivíduo.

Apêndice A

Medidas Farmacocinéticas - Meia Vida

Considerando a taxa de decaimento da concentração da droga x tempo como:

$$\frac{dC}{dt} = -kC^n \quad (\text{A.1})$$

onde

C = Concentração da droga;

k = Taxa constante;

n = Ordem do processo.

Fazendo $n = 1$, temos um processo de 1ª ordem com:

$$\frac{dC}{dt} = -kC \Rightarrow dC = -kCdt \Rightarrow \frac{dC}{C} = -kdt.$$

Integrando com $C : C_0 \rightarrow t$ e $t : 0 \rightarrow t$, temos:

$$\int \frac{dC}{C} = \int -kdt \Rightarrow \ln C \Big|_{C_0}^C = -kdt \Big|_0^t \Rightarrow \ln C - \ln C_0 = -kt,$$

$$\ln C = \ln C_0 - kt. \quad (\text{A.2})$$

Fazendo agora $t = t_{\frac{1}{2}}$ e $C = C_0/2$ e substituindo em A.2, temos:

$$\begin{aligned} \ln C_0/2 &= \ln C_0 - kt_{\frac{1}{2}} \Rightarrow \ln C_0 - \ln 2 - \ln C_0 = -kt_{\frac{1}{2}} \\ &\Rightarrow -\ln 2 = -kt_{\frac{1}{2}} \end{aligned}$$

$$t_{\frac{1}{2}} = \frac{\ln 2}{k} = \frac{0,693}{k} \quad (\text{A.3})$$

Voltando a equação A.2, podemos transformá-la pra obter C:

$$\exp^{\ln C} = \exp^{\ln C_0 - kt}$$

$$C = C_0 \exp^{-kt} \quad (\text{A.4})$$

A transformação logarítmica na base 10 pode ser utilizada como alternativa ao modelo da equação A.2,

$$\log_{10} C = \log_{10} C_0 - \frac{k}{2,303} t \quad (\text{A.5})$$

onde a constante 2.303 corresponde a conversão de logaritmo natural para base 10.

Apêndice B

Teste t –Student para Efeitos do Modelo *Crossover* 2x2

- Efeitos Residuais

A existência de efeitos residuais no estudo significa que os efeitos residuais são diferentes de acordo com o tratamento. Assim, a ausência destes efeitos significa que são equivalentes nos tratamentos administrados.

Se os efeitos residuais estão presentes, não existe estimadores não viciados para o efeito do medicamento. E, se não existe efeitos residuais, o efeito do medicamento pode ser estimado utilizando os dados dos dois períodos.

Para avaliar a presença de efeitos residuais, considere:

$$U_{ij} = Y_{ij1} + Y_{ij2}, \quad (\text{B.1})$$

$$\bar{U}_i = \frac{1}{n_i} \sum_{j=1}^{n_i} U_{ij}, \quad (\text{B.2})$$

$$\text{Var}(U_{ij}) = \sigma_u^2 = 2(2\sigma_s^2 + \sigma_e^2), \quad (\text{B.3})$$

onde $j = 1, \dots, n_i$ $i = 1, 2$.

U_{ij} = soma das medidas farmacocinéticas nos dois períodos para cada indivíduo

$\bar{U}_i$ = média da soma na i -ésima sequência

$\bar{U}_1$, e $\bar{U}_2$, são v.a. independentes com distribuição Normal e mesma variância

Seja $C = C_T - C_R$ com $C_T + C_R = 0$, ou seja, os efeitos residuais são iguais.

Hipótese

Para avaliar se os efeitos residuais são diferentes nos períodos, considere as seguintes hipóteses:

$$H_0 : C = 0 \quad (C_T = C_R)$$

$$H_a : C \neq 0 \quad (C_T \neq C_R)$$

Se rejeitarmos H_0 , ou seja, existem evidências de que $C \neq 0$, então existe a presença de efeitos residuais diferentes entre os tratamentos.

Estatística do Teste

$$\begin{aligned} \hat{R} &= \bar{U}_2 - \bar{U}_1 \sim N(R, Var\hat{R}), \\ Var\hat{R} &= \sigma_u^2 \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right), \\ \widehat{Var}\hat{R} &= \hat{\sigma}_u^2 \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right), \\ \hat{\sigma}_u^2 &= \frac{1}{n_1 + n_2 - 2} \sum_{i=1}^2 \sum_{j=1}^{n_i} (U_{ij} - \bar{U}_i)^2, \\ Sob \ H_0, \ T_r &= \frac{\hat{R}}{\sqrt{\widehat{\sigma}_u^2 \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)}} \sim t(n_1 + n_2 - 2). \end{aligned}$$

Rejeito H_0 , com nível de significância α se: $|T_r| > t(\alpha/2, n_1 + n_2 - 2)$, que corresponde a distribuição de t -Student com nível de significância α e $(n_1 + n_2 - 2)$ graus de liberdade, ou seja, conclui-se que os efeitos residuais são diferentes.

Como a estatística T_r necessita da estimativa de $\sigma_u^2 = 2(2\sigma_S^2 + \sigma_e^2)$, que inclui as variabilidades entre e intra-indivíduo, o teste pode ter pouco poder quando a variabilidade entre-indivíduo é maior do que a intra-indivíduo. Com o objetivo de aumentar o poder do teste, Grizzle (1965) sugeriu utilizar $\alpha = 0,10$.

- Efeito da Droga

Considere a diferença entre as respostas dos períodos para cada indivíduo.

$$d_{ij} = \frac{1}{2}(Y_{ij2} - Y_{ij1}), \quad (\text{B.4})$$

$$\bar{d}_{i.} = \frac{1}{n_i} \sum_{j=1}^{n_i} d_{ij}, \quad (\text{B.5})$$

$$\text{Var}(d_{ij}) = \sigma_d^2 = \sigma_e^2/2, \quad (\text{B.6})$$

$$j = 1, \dots, n_i \quad i = 1, 2.$$

Seja $F = F_T - F_R$ se $C_T = C_R$, então

$$\hat{F} = \bar{d}_{1.} - \bar{d}_{2.} = \bar{Y}_T - \bar{Y}_R,$$

onde:

$$\bar{Y}_R = \frac{1}{2}(\bar{Y}_{1.1} + \bar{Y}_{2.2}) \quad \bar{Y}_T = \frac{1}{2}(\bar{Y}_{1.2} + \bar{Y}_{2.1})$$

$\bar{Y}_R$ e $\bar{Y}_T$ são médias de mínimos quadrados para os medicamentos R e T, respectivamente. E correspondem as médias diretas se $n_1 = n_2$.

Hipótese

$$H_0 : F_T = F_R$$

$$H_a : F_T \neq F_R$$

Estatística do Teste

$$\hat{F} \sim N(F, \text{Var}\hat{F}),$$

$$\text{Var}\hat{F} = \sigma_d^2 \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right),$$

$$\hat{\sigma}_d^2 = \frac{1}{n_1 + n_2 - 2} \sum_{i=1}^2 \sum_{j=1}^{n_i} (d_{ij} - \bar{d}_{i.})^2,$$

$$\text{Sob } H_0, T_d = \frac{\hat{F}}{\sqrt{\hat{\sigma}_d^2 \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)}} \sim t(n_1 + n_2 - 2).$$

Rejeito H_0 , com nível de significância α se: $|T_d| > t(\alpha/2, n_1 + n_2 - 2)$, que corresponde a distribuição de t -Student com nível de significância α e $(n_1 + n_2 - 2)$ graus de liberdade, ou seja, existem evidências estatísticas de que os efeitos das drogas T e R são distintos.

Um estimador não-viciado para F na presença de efeitos residuais, pode ser obtido utilizando os dados do primeiro período.

$$\begin{aligned}\hat{F}^* &= \bar{Y}_{2.1} - \bar{Y}_{1.1}, \\ \hat{\sigma}_d^2 &= \frac{1}{n_1 + n_2 - 2} \sum_{i=1}^2 \sum_{j=1}^{n_i} (Y_{ij1} - \bar{Y}_{i.1})^2, \\ \text{Sob } H_0, T_{d/r} &= \frac{\hat{F}^*}{\sqrt{\hat{\sigma}_d^2(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2})}} \sim t(n_1 + n_2 - 2).\end{aligned}$$

Rejeito H_0 , com nível de significância α se: $|T_{d/r}| > t(n_1 + n_2 - 2)$, que corresponde a distribuição de t -Student com nível de significância α e $(n_1 + n_2 - 2)$ graus de liberdade.

Ao utilizar somente os dados do primeiro período, temos os seguintes problemas: (1) aumento da variabilidade e conseqüentemente redução do poder do teste para detectar diferenças significativas. (2) Ao desconsiderar o segundo período não temos informação para estimar a variabilidade intra-indivíduo das comparações que o planejamento *crossover* fornecia.

- Efeito do Período

Hipótese

$$H_0 : P_1 = P_2$$

$$H_a : P_1 \neq P_2$$

$$\begin{aligned}\hat{P} &= \frac{1}{2}[(\bar{Y}_{1.2} - \bar{Y}_{1.1}) - (\bar{Y}_{2.1} - \bar{Y}_{2.2})], \\ \text{Sob } H_0, T_p &= \frac{\hat{P}}{\sqrt{\hat{\sigma}_d^2(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2})}} \sim t(n_1 + n_2 - 2).\end{aligned}$$

Rejeito H_0 , com nível de significância α se: $|T_p| > t(n_1 + n_2 - 2)$, que corresponde a distribuição de t -Student com nível de significância α e $(n_1 + n_2 - 2)$ graus de liberdade. E conclui-se que existem evidências estatísticas de diferença entre os efeitos de períodos.

Tabela B.1: Inferências Estatísticas para Efeitos Fixos de *Crossover* 2 x 2

Efeitos	ENVUMV ^a	Estatística do Teste
Residuais	$\hat{R} = \bar{U}_{.2} - \bar{U}_{.1} = [(\bar{Y}_{2.1} + \bar{Y}_{2.2}) - (\bar{Y}_{1.1} + \bar{Y}_{1.2})]$	$T_r = \frac{\hat{R}}{\sqrt{\hat{\sigma}_u^2(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2})}}$
Droga sem Efeitos Residuais diferentes	$\hat{F} = \bar{d}_{.1} - \bar{d}_{.2} = \frac{1}{2}[(\bar{Y}_{2.1} + \bar{Y}_{1.2}) - (\bar{Y}_{1.1} + \bar{Y}_{2.2})]$	$T_d = \frac{\hat{F}}{\sqrt{\hat{\sigma}_d^2(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2})}}$
Droga com Efeitos Residuais diferentes	$\hat{F}^* = \bar{Y}_{2.1} - \bar{Y}_{1.1}$	$T_{d/r} = \frac{\hat{F}^*}{\sqrt{\hat{\sigma}_d^2(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2})}}$
Período	$\hat{P} = \frac{1}{2}[(\bar{Y}_{1.2} - \bar{Y}_{1.1}) - (\bar{Y}_{2.1} - \bar{Y}_{2.2})]$	$T_p = \frac{\hat{P}}{\sqrt{\hat{\sigma}_d^2(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2})}}$

^aEstimador Não Viciado Uniformemente Mínima Variância

ANOVA

A análise de variância tem como objetivo particionar a variabilidade total, SQ_{total} , em componentes de efeitos fixos e erros aleatórios, conforme mostra tabela B.2.

No planejamento *crossover* 2 x 2, por exemplo, é possível particionar SQ_{total} das $2(n_1 + n_2)$ observações em componentes de efeitos do período, efeito da droga, efeitos residuais e erro .

Seja $\bar{Y}_{...}$, a média geral das observações. Temos que:

$$\begin{aligned} SQ_{total} &= \sum_{i=1}^2 \sum_{m=1}^2 \sum_{j=1}^{n_i} (Y_{ijm} - \bar{Y}_{ij.})^2 + 2 \sum_{i=1}^2 \sum_{j=1}^{n_i} (\bar{Y}_{ij.} - \bar{Y}_{...})^2 \\ &= SQ_{dentro} + SQ_{entre} \end{aligned}$$

onde:

$$\bar{Y}_{ij.} = \frac{1}{2} \sum_{m=1}^2 Y_{ijm},$$

SQ_{dentro} = soma dos quadrados dentro os indivíduo,

SQ_{entre} = soma dos quadrados entre indivíduo.

Temos ainda que SQ_{entre} e SQ_{dentro} pode ser particionada em :

$$SQ_{entre} = SQ_{residual} + SQ_{inter},$$

$$SQ_{dentro} = SQ_{droga} + SQ_{período} + SQ_{intra}.$$

As Estatísticas de Teste descritas na tabela B.2 são baseadas na distribuição *F de Snedecor* e possui a seguinte relação com as Estatísticas de Teste *t-Student* apresentado anteriormente: $F_d = T_d^2$.

A análise para verificar a significância de efeitos residuais, da droga e do período é semelhante e suas Estatísticas de Teste possuem a mesma distribuição. Assim, pode-se concluir que rejeitamos a igualdade do efeito e ($e = d, r$ e p) ao nível de significância α se: $F_e > F(\alpha, 1, n_1 + n_2 - 2)$, que corresponde ao valor da distribuição *F de Snedecor* com nível de significância α e $(1, n_1 + n_2 - 2)$ graus de liberdade.

Tabela B.2: Análise de Variância para *Crossover 2x2*

Fonte	g.l.	SQ.	QM.=SQ/g.l.	F
EntreIndivíduo				
Sequência	1	$SQ_{carryover} = \frac{2n_1n_2}{n_1+n_2} \{[(\bar{Y}_{2.1} + \bar{Y}_{2.2}) - (\bar{Y}_{1.1} + \bar{Y}_{1.2})]^2\}$	QMresidual	$F_r = \frac{QM_{residual}}{QM_{inter}}$
Resíduos	$n_1 + n_2 - 2$	$SQ_{entre} = \sum_{i=1}^2 \sum_{j=1}^{n_i} \frac{Y_{ij}^2}{2} - \sum_{i=1}^2 \frac{Y_{i.}^2}{2n_i}$	QMinter	
IntraIndivíduo				
Droga	1	$SQ_{droga} = \frac{2n_1n_2}{n_1+n_2} \left\{ \frac{1}{2} [(\bar{Y}_{1.2} - \bar{Y}_{1.1}) - (\bar{Y}_{2.2} - \bar{Y}_{2.1})]^2 \right\}$	QMdroga	$F_d = \frac{QM_{droga}}{QM_{intra}}$
Período	1	$SQ_{periodo} = \frac{2n_1n_2}{n_1+n_2} \left\{ \frac{1}{2} [(\bar{Y}_{1.2} - \bar{Y}_{1.1}) - (\bar{Y}_{2.1} - \bar{Y}_{2.2})]^2 \right\}$	QMperíodo	$F_p = \frac{QM_{período}}{QM_{intra}}$
Resíduos	$n_1 + n_2 - 2$	$SQ_{intra} = \sum_{i=1}^2 \sum_{m=1}^2 \sum_{j=1}^{n_i} Y_{ijm}^2 - \sum_{i=1}^2 \sum_{j=1}^{n_i} \frac{Y_{ij.}^2}{2} - \sum_{i=1}^2 \sum_{j=1}^{n_i} \frac{Y_{i.m}^2}{n_i} + \sum_{i=1}^2 \frac{Y_{i.}^2}{2n_i}$	QMintra	
Total	$2(n_1 + n_2) - 1$	$SQ_{total} = \sum_{i=1}^2 \sum_{m=1}^2 \sum_{j=1}^{n_i} (Y_{ijm} - \bar{Y}_{...})^2$		

Apêndice C

Teste t – Student para Efeitos do Modelo *Crossover* 2x4

A seguir apresentamos os contrastes ortogonais para médias para o planejamento *Crossover* 2x4.

Tabela C.1: Coeficientes dos Contrastes para Testar Efeitos para Modelo Crossover 2x4

Efeitos	1º Período	2º Período	3º Período	4º Período
Efeitos Residuais				
(TRRT)	1	2	-2	-1
(RTTR)	-1	-2	2	1
Efeitos da Droga na presença de Efeitos Residuais				
(TRRT)	6	-3	-7	4
(RTTR)	-6	3	7	-4
Efeitos da Droga na ausência de Efeitos Residuais				
(TRRT)	1	-1	-1	1
(RTTR)	-1	1	1	-1

Tabela C.2: Inferências Estatísticas para Efeitos Fixos de *Crossover* 2 x 4

Efeitos	ENVUMV ^a	Estatística do Teste
Residuais	$\hat{R}/F = \frac{1}{5}[(\bar{Y}_{1.1} + 2\bar{Y}_{1.2} - 2\bar{Y}_{1.3} - \bar{Y}_{1.4}) - (\bar{Y}_{2.1} + 2\bar{Y}_{2.2} - 2\bar{Y}_{2.3} - \bar{Y}_{2.4})]$	$T_r = \frac{\hat{R}/F}{S\sqrt{\frac{2}{5}(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2})}}$
Droga sem Efeitos Residuais diferentes	$\hat{F} = \frac{1}{4}[(\bar{Y}_{1.1} - \bar{Y}_{1.2} - \bar{Y}_{1.3} + \bar{Y}_{1.4}) - (\bar{Y}_{2.1} - \bar{Y}_{2.2} - \bar{Y}_{2.3} + \bar{Y}_{2.4})]$	$T_d = \frac{\hat{F}}{S\sqrt{\frac{1}{4}(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2})}}$
Droga com Efeitos Residuais diferentes	$\hat{F}/R = \frac{1}{20}[(6\bar{Y}_{1.1} - 3\bar{Y}_{1.2} - 7\bar{Y}_{1.3} + 4\bar{Y}_{1.4}) - (6\bar{Y}_{2.1} - 3\bar{Y}_{2.2} - 7\bar{Y}_{2.3} + 4\bar{Y}_{2.4})]$	$T_{d/r} = \frac{\hat{F}/R}{S\sqrt{\frac{11}{40}(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2})}}$

^aEstimador Não Viciado Uniformemente Mínima Variância

Os estimadores não viciados para μ_T e μ_R são dados por:

$$\hat{\mu}_T = \bar{Y}_{...} + \frac{1}{2}(\hat{F}/R) \text{ e } \hat{\mu}_R = \bar{Y}_{...} - \frac{1}{2}(\hat{F}/R)$$

Apêndice D

Programas em SAS

D.1 DKL-2-BEI

```
/* Programa em SAS para verificar BEI para método DKL-2 */  
data albert;  
input indiv trat $ periodo seq auc lnauc;  
datalines;  
data seq1; set albert; if seq=1; proc print;  
data seq2; set albert; if seq=2; proc print;  
/*Organizando sequência 1 de (RRTT) para (TTRR)*/  
data one11; set seq1; if periodo=1; y3=lnauc;  
data one12; set seq1; if periodo=2; y4=lnauc;  
data one13; set seq1; if periodo=3; y1=lnauc;  
data one14; set seq1; if periodo=4; y2=lnauc; ;  
proc sort data=one11; by indiv; proc sort data=one12; by indiv;  
proc sort data=one13; by indiv; proc sort data=one14; by indiv;  
data work1; merge one11 one12 one13 one14; by indiv; proc sort data=work1; by indiv;  
/*Organizando sequência 2 de (TTRR) para (TTRR)*/  
data one21; set seq2; if periodo=1; y1=lnauc;  
data one22; set seq2; if periodo=2; y2=lnauc;  
data one23; set seq2; if periodo=3; y3=lnauc;
```

```

data one24; set seq2; if periodo=4; y4=lnauc;
proc sort data=one21; by indiv; proc sort data=one22; by indiv;
proc sort data=one23; by indiv; proc sort data=one24; by indiv;
data work2; merge one21 one22 one23 one24; by indiv; proc sort data=work2; by indiv;
data work; merge work1 work2 ;by indiv; proc sort data=work; by indiv;
proc print data=work; var indiv y1 y2 y3 y4;run;
/*leitura dos dados para matriz*/
%macro estimacao;
proc iml ;
use work;
read all var y1 y2 y3 y4 into yik ;
print yik;
/*particionando a matriz por individuo*/
yT1=yik[,1]; yT2=yik[,2]; yR1=yik[,3]; yR2=yik[,4];
n1=10; n2=10; total=n1+n2; mediaT=j(total,1,0); mediaR=j(total,1,0);
/* média para indivíduos*/
mediaijT=(yT1+yT2)/2; mediaijR=(yR1+yR2)/2; dif=mediaijT-mediaijR;
/*média para seqüências*/
seq1T=mediaijT[1:n1,1]; seq2T=mediaijT[n1+1:total,1];
medseq1T=(sum(seq1T[,1]))/n1; medseq2T=(sum(seq2T[,1]))/n2;
miT=(medseq1T+medseq2T)/2;
seq1R=mediaijR[1:n1,1]; seq2R=mediaijR[n1+1:total,1];
medseq1R=(sum(seq1R[,1]))/n1; medseq2R=(sum(seq2R[,1]))/n2;
miR=(medseq1R+medseq2R)/2; delta=miT-miR; print miT miR delta;
/*diferença para seqüências*/
v=n1+n2-2; seq1dif=dif[1:n1,1]; seq2dif=dif[n1+1:total,1];
medseq1dif=(sum(seq1dif[,1]))/n1;
medseq2dif=(sum(seq2dif[,1]))/n2;
aux=j(total,1,0);
do i=1 to n1;
aux[i,1]=(dif[i,1]-medseq1dif)**2;

```



```

end;
do i=n1+1 to total;
aux[i,1]=(dif[i,1]-medseq2dif)**2;
end;
/*Obtenção dos estimadores MI, MT e MR*/
aux1=aux[1:n1,1]; aux2=aux[n1+1:total,1];
MI=(sum(aux1[,1])+sum(aux2[,1]));
MI=MI/v; print MI;
Tij=yT1-yT2; Rij=yR1-yR2;
seq1Tij=Tij[1:n1,1]; seq2Tij=Tij[n1+1:total,1];
medseq1Tij=(sum(seq1Tij[,1]))/n1;
medseq2Tij=(sum(seq2Tij[,1]))/n2;
seq1Rij=Rij[1:n1,1]; seq2Rij=Rij[n1+1:total,1];
medseq1Rij=(sum(seq1Rij[,1]))/n1;
medseq2Rij=(sum(seq2Rij[,1]))/n2;
auxT=j(total,1,0); auxR=j(total,1,0);
do i=1 to n1;
auxT[i,1]=(Tij[i,1]-medseq1Tij)**2;
auxR[i,1]=(Rij[i,1]-medseq1Rij)**2;
end;
do i=n1+1 to total;
auxT[i,1]=(Tij[i,1]-medseq2Tij)**2;
auxR[i,1]=(Rij[i,1]-medseq2Rij)**2;
end;
aux1T=auxT[1:n1,1]; aux2T=auxT[n1+1:total,1];
aux1R=auxR[1:n1,1]; aux2R=auxR[n1+1:total,1];
MT=(sum(aux1T[,1])+sum(aux2T[,1]));
MT=MT/(2*v);
MR=(sum(aux1R[,1])+sum(aux2R[,1]))/(2*v); print MT MR;
n=n1+n2; v=n1+n2-2; theta=1.75;
E1=(0.5*(v-2)*(delta**2))/(v*MT); E2=(0.5*(v-2)*(delta**2))/(v*MR);

```

```

E3=(0.5*(v-2)*(n-1)*MI)/(v*n*MT); E4=(0.5*(v-2)*(n-1)*MI)/(v*n*MR);
E5=(0.5*(v-2)*MT)/(2*v*MR); E6=(0.5*(v-2)*MR)/(2*v*MT);
/*Obtenção dos limites superiores de confiança*/
nc=((delta)**2)/(MI/n);
f1=finv(0.95,1,v,nc); f2=finv(0.95,v,v);f3=finv(0.05,v,v);/*print f2 f3;*/
H1=E1*f1; H2=E2*f1; H3=E3*f2;
H4=E4*f2; H5=E5*f2; H6=E6*f2;
U1=(H1-E1)**2; U2=(H2-E2)**2; U3=(H3-E3)**2;
U4=(H4-E4)**2; U5=(H5-E5)**2;U6=(H6-E6)**2;
Heta=(E1+E2+E3+E4+E5+E6)-1.5+sqrt(U1+U2+U3+U4+U5+U6);
eta=E1+E2+E3+E4+E5+E6-1.5; print Heta eta;
if heta> 1.75 then print 'Não Bioequivalência individual com método DKL-2';
else print 'Bioequivalência individual com método DKL-2';
quit;
%mend estimacao;
%estimacao;

```

D.2 Hyslop-BEI

```

/* Programa em SAS para verificar BEI para método de Hyslop */
data albert;
input indiv trat $ periodo seq auc lnau;
datalines;
data seq1; set albert; if seq=1; proc print;
data seq2; set albert; if seq=2; proc print;
/*Organizando sequência 1 de (RRTT) para (TTRR)*/
data onel1; set seq1; if periodo=1; y3=lnau;
data onel2; set seq1; if periodo=2; y4=lnau;
data onel3; set seq1; if periodo=3; y1=lnau;
data onel4; set seq1; if periodo=4; y2=lnau;
proc sort data=onel1; by indiv;proc sort data=onel2; by indiv;

```

```

proc sort data=one13; by indiv; proc sort data=one14; by indiv;
data work1; merge one11 one12 one13 one14; by indiv; proc sort data=work1; by indiv;
/*Organizando seqüência 2 de (TTRR) para (TTRR)*/
data one21; set seq2; if periodo=1; y1=lnauc;
data one22; set seq2; if periodo=2; y2=lnauc;
data one23; set seq2; if periodo=3; y3=lnauc;
data one24; set seq2; if periodo=4; y4=lnauc;
proc sort data=one21; by indiv; proc sort data=one22; by indiv;
proc sort data=one23; by indiv; proc sort data=one24; by indiv;
data work2; merge one21 one22 one23 one24; by indiv; proc sort data=work2; by indiv;
data work; merge work1 work2 ;by indiv; proc sort data=work; by indiv;
proc print data=work; var indiv y1 y2 y3 y4;run;
/*leitura dos dados para matriz*/
%macro estimacao;
proc iml ;
use work;
read all var y1 y2 y3 y4 into yik ;
print yik;
/*particionando a matriz por individuo*/
yT1=yik[,1]; yT2=yik[,2]; yR1=yik[,3]; yR2=yik[,4];
n1=10; n2=10; total=n1+n2; mediaT=j(total,1,0); mediaR=j(total,1,0);
/* média para indivíduos*/
mediaiT=(yT1+yT2)/2; mediaiR=(yR1+yR2)/2; dif=mediaiT-mediaiR;
/*média para seqüências*/
seq1T=mediaiT[1:n1,1]; seq2T=mediaiT[n1+1:total,1];
medseq1T=(sum(seq1T[,1]))/n1; medseq2T=(sum(seq2T[,1]))/n2;
miT=(medseq1T+medseq2T)/2;
seq1R=mediaiR[1:n1,1]; seq2R=mediaiR[n1+1:total,1];
medseq1R=(sum(seq1R[,1]))/n1; medseq2R=(sum(seq2R[,1]))/n2;
miR=(medseq1R+medseq2R)/2; delta=miT-miR; print miT miR delta;
/*diferença para seqüências*/

```

```

n=n1+n2-2; seq1dif=dif[1:n1,1]; seq2dif=dif[n1+1:total,1];
medseq1dif=(sum(seq1dif[,1]))/n1;
medseq2dif=(sum(seq2dif[,1]))/n2;
aux=j(total,1,0);
do i=1 to n1;
aux[i,1]=(dif[i,1]-medseq1dif)**2;
end;
do i=n1+1 to total;
aux[i,1]=(dif[i,1]-medseq2dif)**2;
end;
/*Obtenção dos estimadores MI, MT e MR*/
aux1=aux[1:n1,1]; aux2=aux[n1+1:total,1];
MI=(sum(aux1[,1])+sum(aux2[,1]));
MI=MI/n;
print MI;
Tij=yT1-yT2; Rij=yR1-yR2;
seq1Tij=Tij[1:n1,1]; seq2Tij=Tij[n1+1:total,1];
medseq1Tij=(sum(seq1Tij[,1]))/n1;
medseq2Tij=(sum(seq2Tij[,1]))/n2;
seq1Rij=Rij[1:n1,1]; seq2Rij=Rij[n1+1:total,1];
medseq1Rij=(sum(seq1Rij[,1]))/n1;
medseq2Rij=(sum(seq2Rij[,1]))/n2;
auxT=j(total,1,0); auxR=j(total,1,0);
do i=1 to n1;
auxT[i,1]=(Tij[i,1]-medseq1Tij)**2;
auxR[i,1]=(Rij[i,1]-medseq1Rij)**2;
end;
do i=n1+1 to total;
auxT[i,1]=(Tij[i,1]-medseq2Tij)**2;
auxR[i,1]=(Rij[i,1]-medseq2Rij)**2;
end;

```

```

aux1T=auxT[1:n1,1]; aux2T=auxT[n1+1:total,1];
aux1R=auxR[1:n1,1]; aux2R=auxR[n1+1:total,1];
MT=(sum(aux1T[,1])+sum(aux2T[,1]));
MT=MT/(2*n);
MR=(sum(aux1R[,1])+sum(aux2R[,1]))/(2*n); print MT MR;
theta=2.4948;
ED=delta**2; EI=MI; ET=0,5*MT; ER=-(1.5+theta)*MR;
t=tinv(0,95,n);c=cinv(0,05,n); c1=cinv(0,95,n);
/*Obtenção dos limites superiores de confiança*/
HD=(abs(delta)+t*sqrt(((1/n1)*MI+(1/n2)*MI)/4))**2;
HI=(n*MI)/c; HT=(0,5*n*MT)/c; HR=((-1.5-theta)*n*MR)/c1;
UD=(HD-ED)**2; UI=(HI-EI)**2; UT=(HT-ET)**2; UR=(HR-ER)**2;
print HD ED UD;
print HI EI UI;
print HT ET UT;
print HR ER UR;
Heta=(ED+EI+ET+ER)+sqrt(UD+UI+UT+UR); print Heta ;
if heta > 0 then print 'Não Bioequivalência individual com método de Hyslop';
else print 'Bioequivalência individual com método de Hyslop';
quit;
%mend estimacao;
%estimacao;

```

D.3 DKL-2-Poder do Teste

```

/* Programa em SAS para Poder do Teste para método DKL-2 */
%macro geracaodados(rep);
proc iml;
total=0; n1=6; n2=6; n=n1+n2; v=n1+n2-2; difmedia=0.12; sigmaD=(0.01); sigmaWT=0.5; sig-
maWR=0.5;
sigmaI2=(sigmaD)**2+0.5*((sigmaWT)**2)+0.5*((sigmaWR)**2);

```

```

nc=((difmedia)**2)/(sigmaI2/n);
%do rep=1 %to &rep;
p1=ranuni(0); x1=finv(p1,1,v,nc);
E1=(sigmaI2)/(2*n*((sigmaWT)**2)); E1=E1*x1; E1=(E1*(v-2))/v;
p2=ranuni(0); x2=finv(p2,1,v,nc);
E2=(sigmaI2)/(2*n*((sigmaWR)**2)); E2=E2*x2; E2=(E2*(v-2))/v;
p3=ranuni(0); x3=finv(p3,v,v);
E3=(sigmaI2)/(2*((sigmaWT)**2)); E3=E3*x3; E3=(E3*(n-1)*(v-2))/(n*v);
p4=ranuni(0); x4=finv(p4,v,v);
E4=(sigmaI2)/(2*((sigmaWR)**2)); E4=E4*x4; E4=(E4*(n-1)*(v-2))/(n*v);
p5=ranuni(0); x5=finv(p5,v,v);
E5=((sigmaWT)**2)/(4*((sigmaWR)**2)); E5=E5*x5; E5=(E5*(v-2))/v;
p6=ranuni(0); x6=finv(p6,v,v);
E6=((sigmaWR)**2)/(4*((sigmaWT)**2)); E6=E6*x6; E6=(E6*(v-2))/v;
/*print delta MI MT MR;*/
f1=finv(0.95,1,v,nc); f2=finv(0.95,v,v);
H1=E1*f1; H2=E2*f1; H3=E3*f2;
H4=E4*f2; H5=E5*f2; H6=E6*f2;
U1=(H1-E1)**2; U2=(H2-E2)**2; U3=(H3-E3)**2;
U4=(H4-E4)**2; U5=(H5-E5)**2; U6=(H6-E6)**2;
Heta=(E1+E2+E3+E4+E5+E6)-1.5+sqrt(U1+U2+U3+U4+U5+U6);
eta=E1+E2+E3+E4+E5+E6-1.5; /*print Heta;*/
if (heta<= 1.75) then total=total+1;
%end;
poder= (total/&rep); print total; print poder ;
quit;
%mend geracaodados;
%geracaodados(5000);

```

D.4 Hyslop-Poder do Teste

```

/* Cálculo de Poder do Teste para Método proposto por Hyslop */
%macro geracaodados(rep);
proc iml;
total=0; n1=14; n2=14; n=n1+n2-2; difmedia=0,10; sigmaD=(0,15);sigmaWT=0,15; sigmaWR=0,15;
sigmaI2=(sigmaD)**2+0,5*((sigmaWT)**2)+0,5*((sigmaWR)**2);
%do rep=1 %to &rep;
x=rannor(0);
delta= difmedia + sqrt(1/4*(1/n1+1/n2))*sqrt(sigmaI2)*x;
aux1=2*rangam(0,n/2); MI=(sigmaI2*aux1)/n;
aux2=2*rangam(0,n/2); MT=((sigmaWT**2)*aux2)/n;
aux3=2*rangam(0,n/2); MR=((sigmaWR**2)*aux3)/n;
/*print delta MI MT MR;*/
varw0=0,04; theta=2.4948;
ED=delta**2; EI=MI; ET=0,5*MT;
if MR>varw0 then ER=-(1.5+theta)*MR;
else ER=-1.5*MR;
t=tinv(0,95,n);c=cinv(0,05,n); c1=cinv(0,95,n);
HD=(abs(delta)+t*sqrt(((1/n1)*MI+(1/n2)*MI)/4))**2;
HI=(n*MI)/c; HT=(0,5*n*MT)/c;
if MR>varw0 then HR=((-1.5-theta)*n*MR)/c1;
else HR=(-1.5)*n*MR)/c1;
UD=(HD-ED)**2; UI=(HI-EI)**2; UT=(HT-ET)**2; UR=(HR-ER)**2;
if MR>varw0 then do;
Heta=(ED+EI+ET+ER)+sqrt(UD+UI+UT+UR);
eta= ED+EI+ET+ER;
end;
else do;
Heta=(ED+EI+ET+ER)-theta*varw0+sqrt(UD+UI+UT+UR);
eta=ED+EI+ET+ER-theta*varw0;

```

```

end;
print eta Heta ;
/*if heta> 0 then print 'Não Bioequivalência individual com método de Hyslop';
else print 'Bioequivalência individual com método de Hyslop';*/
if (heta< 0) & (eta< 0) then c=1;
if (heta> 0) & (eta< 0) then c=3;
if (heta> 0) & (eta>= 0) then c=4;
if c=1 then total=total+1;
%end;
poder= (total/&rep);
print total;
print poder;
quit;
%mend geracaodados;
%geracaodados(5000);

```


Bibliografia

- [1] Albert, K.S. e Smith, R.B. (1980). Bioavailability Assessment as Influenced by Variation in Drug Absorption. *Drug Absorption and Disposition: Statistical Considerations*, 87-113.
- [2] Agência Nacional de Vigilância Sanitária-ANVISA (2002). Manual de Boas Práticas em Biodisponibilidade Bioequivalência, Volume I.
- [3] Bickel, P.J. e Doksum, K.A. (1977). *Mathematical Statistics*. Holden Day.
- [4] Berger, R. e Hsu, J. (1996). Bioequivalence Trials, Intersection-Union Tests and Equivalence Confidence Sets. *Statistical Science*, 11(4), 283-319.
- [5] Brown, E.B. e Iyer, H.K. (1997). Tolerance Intervals for Assessing Individual Bioequivalence. *Statistics in Medicine*, 16, 803-820.
- [6] Brown, E.B. (1996). Tolerance Intervals for Individual Bioequivalence. *Dissertação*.
- [7] Carrasco, J-L. e Jover, L. (2003). Assessing Individual Bioequivalence Using the Structural Equation Model. *Statistics in Medicine*, 22, 901-912.
- [8] Chen, M-L., Partnaik, R. et al. (2000). An Individual Bioequivalence Criterion: Regulatory Considerations. *Statistics in Medicine*, 19, 2821-2842.
- [9] Chinchilli, V.M. e Vonesh, E.F. (1997). *Linear and Nonlinear Models for the Analysis of Repeated Measurements*. Marcel Dekker.
- [10] Chinchilli, V.M. e Esinhart, J.D. (1996). Design and Analysis of intra-subject variability in cross-over experiments. *Statistics in Medicine*, 15, 1619-1634.
- [11] Chow, S.C. e Liu, J.P. (1995). Current issues in bioequivalence trials. *Drug Information Journal*, 29, 795-804.

- [12] Chow,S.C. e Liu,J.P.(1997). A Two One-Sided Tests Procedure for Assessment of Individual Bioequivalence. *Journal of Biopharmaceutical Statistics*, 7(1), 49-61.
- [13] Chow,S.C. e Liu,J.P.(2000). *Design and Analysis of Bioavailability and Bioequivalence Studies*. Marcel Dekker.
- [14] Dragalin,V., Fedorov,V., Patterson,S. e Jones,B.(2003). Kullback-Leibler Divergence for Evaluating Bioequivalence. *Statistics in Medicine*, 22, 913-930.
- [15] Chow, S.C.(2000). *Encyclopedia of Biopharmaceutical Statistics*. Marcel Dekker.
- [16] Efron,B. e Tibshirani,R.J.(1993).*An Introduction to the Bootstrap*. Chapman & Hall.
- [17] Ekbohm,G. e Melander,H.(1989). The subject-by-formulation Interaction as a Criterion of Interchangeability of Drugs. *Biometrics*, 45, 1249-1254.
- [18] Endrenyi,L., Fritsch,S. e Yan,W.(1991). C_{max}/AUC is a clearer measure than C_{max} for absorption rates in investigations of bioequivalence. *International Journal of Clinical Pharmacology, Therapy and Toxicology*, 29, 394-399.
- [19] Endrenyi,L.(1994). A Method for the Evaluation of Individual Bioequivalence.*International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 32(9), 497-508.
- [20] Esinhart,J.D. e Chinchilli,V.M.(1994). Sample Size Considerations of Assessing Individual Bioequivalence Based on the Method of Tolerance Intervals.*Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 32(1), 26-32.
- [21] Graybill,F. e Wang,C.M.(1980). Confidence Intervals on nonnegative linear combinations of variances. *Journal of American Statistical Association*,75, 869-873.
- [22] Graybill,F. e Burdick,R.(1992). *Confidence Intervals on Variance Components*. Marcel Dekker.
- [23] Hauck,W.W. e Anderson,S.(1990). Consideration of Individual Bioequivalence. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics*, 18(3), 259-273.
- [24] Hauck,W.W. e Anderson,S.(1992). Types of Bioequivalence and Related Statistical Considerations. *International Journal of Clinical Pharmacology, Therapy and Toxicology*, 30(5), 181-187.

- [25] Hauck,W.W.(1996).Mean difference vs. variability reduction: tradeoffs in aggregate measures for individual bioequivalence.International Journal of Clinical Pharmacology, Therapy and Toxicology, 34, 535-541.
- [26] Holder,D.J. e Hsuan,F.(1993). Moment-Based Criteria for Determining Bioequivalence. Biometrika, 80(4), 835-846.
- [27] Howe,W.G. (1974). Approximate Confidence Limits on the Mean of $X+Y$ Where X and Y Are Two Tabled Independent Random Variables.Journal of American Statistical Association,69, 789-794.
- [28] Hsu,J.C., Hwang,J.T.G., Liu,H. e Ruberg,S.J.(1994). Confidence Intervals Associated with Tests for Bioequivalence. Biometrika, 81, 103-114.
- [29] Hsuan,F.C. e Reeve,R.(2003). Assessing Individual Bioequivalence with High-Order Crossover Designs: a Unified Procedure. Statistics in Medicine, 22, 2847-2860.
- [30] Hyslop,T., Hsuan,F. e Holder,D.J.(2000).A Small Sample Confidence Interval Approach to Assess Individual Bioequivalence. Statistics in Medicine, 19, 2885-2897.
- [31] Jones,B. e Kenward,M.G.(1989). Design and Analysis of Cross-Over Trials. Chapman & Hall.
- [32] Kimanani,E.K. e Potvin,D.(1997). A Parametric Confidence Interval for a Moment-Based Scale Criterion for a Individual Bioequivalence.Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics, 25(5), 595-614.
- [33] Kimanani,E.K., Potvin,D. e Lavigne,J.(2000). Numerical Methods for the Evaluation of Individual Bioequivalence Criteria. Statistics in Medicine, 19, 2775-2795.
- [34] Kullback,S. e Leibler,R.A. (1951). On Information and Sufficiency. Annals of Mathematical Statistics, 22, 79-86.
- [35] Laird,N.M. e Ware,J.H.(1982). Random Effects Models for Longitudinal Data.Biometrics, 38, 403-457.
- [36] Lei nº 9.787 de 10 de fevereiro de 1999, ANVISA-Ministério da Saúde.

- [37] Liu, J.P.(1998). Statistical Evaluation of Individual Bioequivalence. *Communications in Statistics - Theory and Methods*, 27(6), 1433-1451.
- [38] McNally, R.J., Iyer, H. e Mathew, T.(2003). Tests for Individual and Population Bioequivalence Based on Generalized p-Values. *Statistics in Medicine*, 22, 31-53.
- [39] Metzler, C.M e Shumaker, R.C.(1998). The Phenytoin Trial is a Case Study of Individual Bioequivalence. *Drug Information Journal*, 32, 1063-1072.
- [40] Midha, K.K. e Endrenyi, L.(1998). Individual Bioequivalence - has its time come? *European Journal of Pharmaceutical Science*, 6, 271-277.
- [41] Phillips, K.F.(1990). Power os the two one-sided tests procedure in bioequivalence. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics*, 18, 137-144.
- [42] Quiroz, J., Ting, N., Wei, G.C. e Burdick, R.(2002). Alternative Confidence Intervals for the Assessment of Bioequivalence in Fou-Period Crossover Designs. *Statistics in Medicine*, 21, 1825-1847.
- [43] Resolução n^o 898 de 29 de maio de 2003, ANVISA-Ministério da Saúde.
- [44] Resolução n^o 896 de 29 de maio de 2003, ANVISA-Ministério da Saúde.
- [45] Resolução n^o 135 de 29 de maio de 2003, ANVISA-Ministério da Saúde.
- [46] Schall, R. e Luus, H.(1993). On Population and Individual Bioequivalence. *Statistical in Medicine*, 12, 1109-1124.
- [47] Schall, R.(1995). Assessment of Individual and Population Bioequivalence Using the Probability that Bioavailabilities are Similar. *Biometrics*, 51, 615-626.
- [48] Sheiner, L.B.(1992). Bioequivalence Revisited. *Statistical in Medicine*, 11, 1777-1788.
- [49] Schuirman, D.J.(1981). On hypothesis testing to determine if the means on normal distribution is continued in a known interval. *Biometrics*, 37, 617.
- [50] Ting, N., Burdick, R., Graybill, F., Jeyaratnam, S. e Lu, T-F.C.(1990). Confidence Intervals on Linear Cobinations of Variance Componentes that are Unrestricted in Sign. *Journal of Statistical Computation and Simulation*, 35, 135-143.

- [51] Tsui,K.W. e Weerahandi,S.(1989). Generalized p-values in Significance Testing os Hypotheses in the Presence os Nuisance Parameters. *Journal of American Statistical Association*,84, 602-607.
- [52] US Food and Drug Administration-FDA (1997). Draft Guidance on In Vivo Bioequivalence Studies Based on Population and Individual Bioequivalence Approaches. Division of Bioequivalence, Office of Generic Drugs, Center for Drug Evaluation and Research.
- [53] US Food and Drug Administration-FDA (2001). Guidance for Industry- Statistical Approaches to Establishing Bioequivalence, Office of Generic Drugs, Center for Drug Evaluation and Research.
- [54] US Food and Drug Administration-FDA (1998). Bioequivalence Studies. <http://www.fda.gov/cder/bioequivdata/>.
- [55] Vuorinem, J.(1997). A practical approach for the assessment of bioequivalence under selected higher-order crossover designs. *Statistics in Medicine*, 16, 2229-2243.
- [56] Wang,C.M. e Iyer,H.K. (1994). Tolerance Intervals for the Distribution of True Values in the Presence of Measurement Errors. *Technometrics*, 36, 162-170.
- [57] Westlake,W.J.(1981). Bioequivalence Testing - a need to rethink [reader reaction response].*Biometrics*, 37, 591-593.
- [58] Westlake,W.J.(1988). Bioavailability and Bioequivalence of Pharmaceutical Formulations. *Pharmaceutical Statistics for Drug Development*. Marcel Dekker, 329-352.
- [59] Zariffa,N.M., Patterson,S.D. et al.(2001). Population and Individual Bioequivalence Lessons from Real Data and Simulation Studies. *Journal of Clinical Pharmacology*, 41, 811-822.