

**BIOEQUIVALENCIA:
Ensayo clínico para garantizar
intercambiabilidad.**

Maritza Morera Sigler

Farmacéutica, farmacóloga; Sección Científico-Técnica, Departamento de Farmacoterapia, C.C.S.S; egresada de la Maestría SEP-Biomédicas con énfasis en Farmacología, Escuela de Medicina, Universidad de Costa Rica.

Correspondencia: Dra. M. Morera, Dpto. Farmacoterapia, Oficinas centrales CCSS, piso 12. Teléfonos 222-1878, 236-4333; fax 257-7004.

Recibido para publicación el día 16 de agosto, 2000.

RESUMEN

Los estudios de bioequivalencia son apropiados para evaluar la intercambiabilidad entre dos formulaciones de un mismo medicamento: una innovadora o producto de investigación, y otra "multiorigen" o "genérica" sin estudios clínicos que sustenten su eficacia y seguridad. Además en nuestro país existe una política de medicamentos basada en el favorecimiento en la utilización de genéricos.

En este documento se presenta una revisión sobre el tema de bioequivalencia y se ofrece, además, lo establecido por los organismos reguladores internacionales sobre cuándo es necesaria (y, por lo tanto, obligatorio) la realización de estudios de bioequivalencia.

Palabras clave: bioequivalencia, medicamentos genéricos, intercambiabilidad.

I.

INTRODUCCIÓN

El uso de los medicamentos conlleva la responsabilidad de asegurar al paciente que se cumple con los estándares internacionales de seguridad, eficacia y calidad. La industria farmacéutica produce fármacos nuevos (innovadores), pero los laboratorios pequeños tienden a manufacturar los productos genéricos o "multiorigen", que se promocionan como intercambiables. Los medicamentos multiorigen habrían de cumplir con todos los requisitos exigidos para los productos innovadores, tales como: fabricación según las Buenas Prácticas de Manufactura, biodisponibilidad, estudios clínicos de eficacia y otros. También deberían demostrar su intercambiabilidad con el medicamento innovador para garantizar la seguridad y eficacia en los pacientes; ya que los médicos pueden prescribir unos u otros, indistintamente, al asumir que se obtendrá la misma respuesta terapéutica con su administración.

En Costa Rica, y por políticas de contención del gasto del Sector Salud, es común el uso de medicamentos "genéricos", éstos deberían demostrar su intercambiabilidad con los medicamentos innovadores para así recomendar su empleo. La comprobación de la bioequivalencia constituye el ensayo más apropiado para garantizar la intercambiabilidad entre dos formulaciones que son equivalentes farmacéuticos; es decir, que tienen el mismo principio activo, en la misma forma farmacéutica, pero que no necesariamente con los mismos excipientes (1). Con estos ensayos se analiza si el principio activo contenido en una forma farmacéutica fabricada por un laboratorio diferente al innovador, se libera en cantidad y a velocidad similar, de modo que al administrar uno u otro, se espera obtener el mismo efecto farmacológico.

En consecuencia, el objetivo de esta revisión es brindar los elementos conceptuales sobre bioequivalencia, metodología a seguir para realizar estos ensayos, su análisis estadístico y la toma de decisión posterior, para documentar la posible intercambiabilidad entre la formulación innovadora y la "genérica".

II. ANTECEDENTES HISTÓRICOS

A partir de 1940, con el crecimiento de la industria farmacéutica, se puso a disposición de la población una amplia gama de principios activos en diferentes formas farmacéuticas. En ese momento, los esfuerzos se encaminaron a garantizar la pureza del principio activo y el contenido de la formulación (2). Se establecieron controles analíticos *in vitro* para asegurar que los procesos de manufactura siguieran normas que garantizan la calidad de las

Morera: Bioequivalencia

preparaciones. Estas normas se publicaron en las Farmacopeas o libros oficiales, y conformaron la "Guía de Buenas Prácticas de Manufactura" (Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos de Norteamérica FDA (3).

Las primeras normas oficiales fueron dictadas por Estados Unidos en 1938, y daba más importancia al contenido químico de la preparación (4). Se exigió, como control analítico, la prueba de disolución a los preparados para uso oral; y estas pruebas se estimaron como "orientativas" de los procesos de absorción del fármaco en el organismo.

Sin embargo, con la utilización de los medicamentos en la práctica clínica, se demostró que no era suficiente cumplir con lo estipulado en los libros oficiales en cuanto a pureza, uniformidad de contenido y disolución para asegurar que se obtendría la misma respuesta farmacológica (5). Se hizo evidente que la equivalencia química (mismo principio activo y misma dosis) y la equivalencia galénica (misma forma de dosificación con fabricación bajo requisitos farmacopeicos) no garantizaba la equivalencia terapéutica (6). Se presentaron casos en que dos productos que tenían la misma disolución *in vitro* producían perfiles diferentes de concentración en plasma, o que dos formulaciones con curvas de nivel plasmático idénticas tenían diferencias significativas en los perfiles de disolución (7,8).

Los estudios con vitaminas, realizados por Oser y colaboradores (1945), demostraron que había diferencias en el proceso de absorción según el preparado farmacéutico. Oser lo definió como "*disponibilidad fisiológica*" para referir la cantidad de medicamento absorbido de una formulación, con relación a otra de referencia (9).

En los años 70 y 80 se reportaron fallas terapéuticas ocasionados por la sustitución de una especialidad farmacéutica por otra, aún cuando estas contenían la misma cantidad y el mismo principio activo (5). Al analizar estas especialidades farmacéuticas (warfarina, teofilina, hidroclorona) se determinó que cumplían con los requerimientos establecidos por las Farmacopeas Oficiales en cuanto a análisis *in vitro*. Las diferencias observadas en la eficacia terapéutica tenían como base la diferente cantidad y velocidad de acceso del fármaco a la circulación sistémica (6).

Lo anterior dio lugar a que Wagner, en 1975, definiera la *biodisponibilidad* como la "*velocidad y magnitud con la que un principio activo contenido en un medicamento se absorbe y se hace disponible a la circulación sistémica*". Esto sirvió de base para que, luego, el mismo Wagner introdujera el término de la "*bioequivalencia*", dirigido sobre todo al control de calidad de los preparados farmacéuticos (2,10-12).

En 1992, la F.D.A. definió "*biodisponibilidad*" como "*velocidad y cantidad a la cual un fármaco o componente activo, absorbido a partir de la*

forma de dosificación que lo contiene se hace disponible en su lugar de acción" (13). Esta definición relaciona la "disponibilidad fisiológica" de un determinado principio activo con la "actividad farmacológica/terapéutica", pero planteó un problema práctico al pretender evaluar objetivamente la velocidad y la cantidad de acceso del principio activo al "lugar de acción". Esto es realmente imposible en muchos casos, por lo difícil de acceder al sitio de acción o, porque, en realidad, en muchos casos no se conoce aún con certeza cuál es el sitio de acción del fármaco.

Por lo anterior, en la primera guía de ensayos biofarmacéuticos en humanos publicada en 1972, la Asociación de Farmacéuticos Americanos (APhA) definió la biodisponibilidad como *"la fracción (porcentaje o cuantía) de dosis que accede inalterada a la circulación sistémica y la velocidad a la que tiene lugar el proceso"*. Esta definición fue aceptada científicamente por los organismos reguladores, dado que el proceso de acceso del fármaco a la circulación sistémica se puede cuantificar al tomar muestras sanguíneas y determinar su concentración por métodos analíticos (2). Así, con la comprobación de la bioequivalencia se analiza si el principio activo contenido en una forma farmacéutica fabricada por un laboratorio diferente al innovador, se libera en cantidad y velocidad similar, y con ello, se garantiza la intercambiabilidad entre las formulaciones sin correr el riesgo de falla terapéutica o de toxicidad (2,10,12,14).

III. CONSIDERACIONES METODOLÓGICAS

Un estudio de bioequivalencia es un ensayo clínico en donde unos sujetos sanos de ambos sexos reciben los productos test y referencia en ocasiones separadas (diseño cruzado: todos los individuos participantes reciben las formulaciones que se desean comparar siguiendo la aleatorización establecida previamente), *en una o en múltiples dosis*, con asignación aleatoria de la secuencia de administración. Se prefiere el diseño cruzado porque cada individuo es su propio control, se disminuye la variabilidad interindividual en la comparación entre las formulaciones, y, al haber randomización de los individuos en las secuencias de las formulaciones, se permite estimar mejor las diferencias o similitudes entre la biodisponibilidad (Comité para Productos Medicinales Europeos, CPMP (12,15-17).

Luego de la primera administración y siguiendo la aleatorización, se deja un período de blanqueo suficiente para garantizar que la totalidad del fármaco administrado en el primer período y sus metabolitos estén totalmente eliminados. El período de lavado no es inferior a 10 vidas medias del fármaco (12,17-19).

Morera: Bioequivalencia

Para disminuir al máximo la variabilidad intra e interindividual la administración de los tratamientos debe estandarizarse al máximo, siguiendo la secuencia y período seleccionados, bajo las mismas condiciones de ayuno primero y de dieta después. Para esto se estandariza la ingesta de líquidos, el reposo, la alimentación y el tiempo que transcurre entre cada extracción sanguínea. Todo esto se realiza para controlar todos los detalles que puedan llevar a modificación de la absorción del fármaco. Se deben evitar las bebidas o estilos de vida que puedan hacer variar la farmacocinética del medicamento en estudio, tales como la ingesta de alcohol, bebidas que contienen xantinas, el fumado y la actividad física (al realizar ejercicios se redistribuye y se aumenta el flujo sanguíneo y esto puede llevar a cambios en la absorción) (12, 20-24).

IV. ASPECTOS DE LA MUESTRA

En cuanto a la selección y tamaño de la muestra, con el fin de implementar un estudio de bioequivalencia, se seleccionan sujetos sanos para evitar interferencia en los parámetros farmacocinéticos debidos a enfermedad (13, 14, 21, 25, 26).

Se realiza con sujetos de ambos sexos, es decir, participan de sexo femenino y masculino, debido a que en estudios previos se ha demostrado que no hay diferencias significativas atribuibles al sexo (13, 27-30), se realizan únicamente con voluntarios masculinos si el medicamento a ensayar presenta toxicidad reproductiva (31).

El número de sujetos se calcula tomando en cuenta la diferencia mínima que se desea detectar entre las formulaciones, el nivel de significación estadística α , la potencia del ensayo ($1-\beta$) (o sea de la probabilidad de reconocer diferencias donde realmente las hay), y la varianza residual obtenida de estudios previos realizados con el medicamento objeto de estudio. De acuerdo con las recomendaciones de la FDA (13) el nivel de significación aceptado para este tipo de análisis es un valor alfa de 0.05 y un valor beta de 0.2, para disponer de un tamaño de muestra adecuado (32). Para los estudios de bioequivalencia se ha estandarizado el uso de un nivel de significación de 0.05 para α y de 0.20 para β (13, 33-35).

V. CONSIDERACIONES EXPERIMENTALES

En cuanto a los tiempos de muestreo y a la cuantificación del fármaco, la decisión de los puntos de muestreo (toma de muestras sanguíneas) se hace con base en la caracterización cinética obtenida por estudios pre-

vios del medicamento objeto de ensayo. Como norma general, deberán ser como mínimo cuatro en la fase de absorción, tres alrededor del nivel plasmático máximo y el resto en la etapa de eliminación (12,36).

La cuantificación de fármaco es uno de los puntos fundamentales de un estudio de bioequivalencia. El método bioanalítico (definido como el método químico usado para medir los niveles de drogas en fluidos biológicos) debe seguir los criterios de validación para bioanálisis a que obligan las autoridades regulatorias mayoritarias (Unión Europea, Estados Unidos y Japón) acogidas en la Conferencia Internacional sobre armonización (I.C.H.) (37). El proceso de documentar que el método en consideración es conveniente o satisfactorio (validación) es crucial para los estudios de bioequivalencia. Una técnica muy utilizada para la cuantificación de fármacos en fluidos biológicos es la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

VI. PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS

En los estudios de bioequivalencia lo que se determina es la biodisponibilidad relativa, al comparar la biodisponibilidad del producto de referencia versus la del medicamento a ensayar; y, se puede hacer por administración de una sola dosis o de dosis múltiple de los medicamentos. Además, tiene dos componentes: la biodisponibilidad en magnitud, definido como fracción de la dosis administrada que alcanza inalterada la circulación sistémica; y la biodisponibilidad en velocidad que se hace para caracterizar y cuantificar el proceso de absorción de los fármacos (2, 10, 12, 14).

- i) *Tras la administración de una dosis única por una vía extravascular (por ejemplo: oral),*

Los parámetros a comparar en la biodisponibilidad en magnitud son:

- **Área bajo la curva de niveles plasmáticos (AUC):** Superficie que relaciona las concentraciones plasmáticas de un fármaco con el tiempo a partir del momento de la administración. Las unidades usuales del AUC son: $\text{mg} \cdot \text{min} \cdot \text{mL}^{-1}$

Los parámetros a comparar en la biodisponibilidad en velocidad son:

- **C_{máx}** : concentración o nivel plasmático máximo del perfil cinético; se describe en unidades de masa/volumen.
- **t_{máx}** : Corresponde al tiempo del C_{máx}; la unidad del t_{máx} es tiempo (horas, minutos, segundos).

Morera: Bioequivalencia

Otros parámetros farmacocinéticos alternativos o complementarios a los citados son:

- **$C_{m\acute{a}x} / AUC_0^{\infty}$** : relacionados con la biodisponibilidad en velocidad, cuando los parámetros $t_{m\acute{a}x}$ y $C_{m\acute{a}x}$ se consideran insuficientes para definir adecuadamente la velocidad de absorción.
- **$AUC_{m\acute{a}x} / AUC_0^{\infty}$** : área bajo la curva de niveles plasmáticos desde tiempo cero hasta $t_{m\acute{a}x}$ entre el área bajo la curva desde tiempo cero hasta el infinito (12, 21).

ii) Tras la administración de dosis múltiple por una vía extravascular:

Para la determinación de la biodisponibilidad tras administración de dosis múltiples, se necesita haber alcanzado el estado de equilibrio estacionario; esto es, que la concentración del fármaco en sangre haya alcanzado una meseta o un máximo de concentración estable.

La determinación de la biodisponibilidad en estado estacionario presenta una serie de ventajas como son: una estimación más próxima a la realidad (la mayoría de fármacos se administran bajo un régimen de dosificación múltiple), un requerimiento menor de muestras de plasma para determinar los parámetros farmacocinéticos y, al disponer de una concentración sanguínea más elevada, una mayor confiabilidad en los métodos analíticos.

También presenta desventajas, como son: tener que seguir estrictamente un régimen de dosificación repetido que puede llevar a incumplimiento, una mayor duración del estudio (se necesita haber alcanzado el estado estacionario, que se alcanza en un tiempo $\geq$ a 7 vidas medias del fármaco), y un riesgo aumentado para los voluntarios al tener que recibir más cantidad de dosis del fármaco (12,21).

Los parámetros usuales son:

- **$AUC_{\tau^{ee}} \text{ ó } C_{ee}$** : área bajo la curva durante un intervalo de dosificación (τ) en estado de equilibrio estacionario (ee).
- **$C_{ee_{m\acute{a}x}}$** : nivel plasmático máximo (concentración plasmática máxima) en estado de equilibrio estacionario (ee).

Los estudios de bioequivalencia, salvo que exista alguna limitación insalvable, se prefieren hacer con administración de dosis única.

VII. CRITERIOS DE VALORACIÓN - Análisis estadístico

El análisis estadístico se aplica a las tres variables fundamentales : AUC , $C_{m\acute{a}x}$ y el $t_{m\acute{a}x}$.

A las variables AUC y C_{máx} al ser cuantitativas continuas se les aplica estadística paramétrica, un análisis de varianza (ANOVA). Las autoridades regulatorias de los Estados Unidos y de la Unión Europea obligan a realizar previamente la transformación logarítmica de los datos (13,15).

El ANOVA se utiliza como ensayo paramétrico para conocer y cuantificar las fuentes de variabilidad y para obtener la dispersión no controlada del diseño experimental (la varianza residual), con el fin posterior de calcular los intervalos de confianza, base en la toma de decisión (38, 39).

A la variable t_{máx} por ser una variable cuantitativa discreta obtenida sobre puntos temporales preseleccionados, se trata con estadística no paramétrica. Para su aplicación existen programas adaptados que permiten la automatización de los datos, como el elaborado por Wijnands (40).

VIII. METODOLOGIA PARA TOMA DE DECISIÓN

La evaluación estadística aplicable a los estudios de bioequivalencia se basa en los intervalos de confianza de la biodisponibilidad relativa. Dos formulaciones se considerarán bioequivalentes en velocidad y magnitud si la "amplitud de la diferencia entre las variables respectivas, es menor o igual al 20%" (4,13,16,41,42).

El establecimiento de la bioequivalencia se plantea en tres etapas (13,43,44):

1. Se concreta el ámbito teórico de bioequivalencia. Este valor se establece *a priori* basado en la experiencia y en las características del fármaco, estableciendo el "ámbito" en el cual podrían aparecer diferencias en la respuesta farmacológica (en bioequivalencia usualmente $\pm 20\%$).
2. Se calcula el Intervalo de Confianza, utilizando un valor alfa seleccionado a partir de los resultados experimentales de un ensayo previo.
3. Toma de decisión: se establece que una formulación test será bioequivalente respecto a una de referencia, si los límites obtenidos tras el cálculo del Intervalo de Confianza no sobrepasan, en ningún sentido, el Ámbito Teórico establecido inicialmente. Este ámbito teórico se establece en un 20% de la formulación de referencia y en casos de medicamentos con estrecho margen terapéutico, este ámbito podría ser aún más estrecho (12).

Algunos organismos reguladores como la F.D.A. para el análisis estadístico recomiendan el método de los dos ensayos "t" unilaterales de Schuirmann (34). Este método es similar al de los Intervalos de Confianza

clásicos y evalúa la comparabilidad de las medias de los parámetros farmacocinéticos obtenidos de las formulaciones.

El intervalo que se propone se divide en dos hipótesis "t" unilaterales, donde uno de ellos propone que la biodisponibilidad no debe ser menor que el límite inferior, y el otro grupo, prueba que la biodisponibilidad no debe ser mayor que el límite superior establecido. La F.D.A. propone un Intervalo de Confianza del 90%, donde los límites deben estar entre 80%-120%. Entonces, las formulaciones serían bioequivalentes si ambas hipótesis unilaterales son rechazadas (13).

IX. BIODISPONIBILIDAD Y BIOEQUIVALENCIA: ¿cuándo se debe realizar?

Los organismos oficiales como son la Organización Mundial de la Salud, el organismo regulatorio de los Estados Unidos de Norteamérica: F.D.A., y el organismo regulatorio de la Comunidad Económica Europea: CPMP; dan su recomendación sobre cuándo realizar estudios de biodisponibilidad y bioequivalencia (2,13,15,45).

Se requerirán ensayos *in vivo* cuando se trata de:

i) *Formas de dosificación oral de liberación inmediata y con acción sistémica:*

- β Principio activo indicado en enfermedades graves.
- β Estrecho margen terapéutico.
- β Farmacocinética compleja (absorción menor de 70%, ventana de absorción, comportamiento farmacocinético no lineal, eliminación presistémica mayor al 70%).
- β Propiedades fisicoquímicas desfavorables (baja solubilidad, polimorfismo, modificaciones metaestables, inestabilidad).
- β Evidencia documentada de problemas de biodisponibilidad.

ii) *Medicamentos no orales de liberación inmediata.*

iii) *Medicamentos de liberación controlada.*

Por otra parte, **no** se requerirán estudios de bioequivalencia cuando se cumplen todas las siguientes condiciones:

- *Medicamentos que sólo difieren en la dosis y cuando tienen: comportamiento farmacocinético lineal, composición cualitativa idéntica, relación cuantitativa entre el principio activo y excipientes igual al innovador o re-*

ferencia y el medicamento es producido por el mismo fabricante y en el mismo lugar de fabricación, y cuando se dispone de un estudio de bioequivalencia con el medicamento innovador y posee la misma velocidad de disolución *in vitro* bajo las mismas condiciones.

- *Medicamento ligeramente reformulado o al que se ha modificado ligeramente su método de fabricación:* si posee la misma velocidad de disolución bajo las mismas condiciones y se dispone de un estudio de biodisponibilidad o bioequivalencia con el medicamento original.
- *Solución para administración parenteral:* cuando se trata del mismo principio activo y los excipientes son idénticos y se hallan en la misma concentración.
- *Solución para administración oral:* con el mismo principio activo, y a la misma concentración sin excipientes que puedan afectar al vaciado gástrico o la absorción.
- *Cuando se dispone de correlaciones in vitro / in vivo:* si la forma de dosificación posee una velocidad de disolución que resulta equivalente a la que presenta el medicamento original ya probado.

Además, los estudios de bioequivalencia no son relevantes en caso de soluciones para administración intravenosa, medicamentos tópicos para uso local y medicamentos para aplicación dérmica sin pretender absorción sistémica (2,13,15).

X. CONCLUSIÓN

Los estudios de bioequivalencia son los ensayos más apropiados para garantizar la intercambiabilidad entre dos formulaciones, una innovadora y otra "genérica", pues verifican que el principio activo contenido en una forma farmacéutica fabricada por un laboratorio diferente al innovador, se libera en cantidad y velocidad similar a éste, alcanzando la misma concentración en sangre y, por tanto, se espera con su administración el mismo efecto farmacológico que su predecesor.

Es evidente que tales estudios son de extrema relevancia para ofrecer elementos científicos de intercambio con seguridad y eficacia, sobre todo de aquellos medicamentos de cuya acción sistémica depende la vida de un paciente.

Estos estudios son muy relevantes, sobre todo porque ya el país dio un gran paso; a partir del año 2001 será obligatoria su realización para poder comercializarlos como medicamentos genéricos. Con esto se pone Costa Rica a la vanguardia en América Latina en este tema, en el que países del primer mundo ya llevan muchos años adelante.

BIBLIOGRAFÍA

1. La gaceta N° 42: Diario Oficial. Decreto N° 28466-S: 29 febrero 2000, San José, Costa Rica.
2. Organización Mundial de la Salud. (O.M.S.) Comité de Expertos en Especificaciones para Preparaciones Farmacéuticas. Aseguramiento de la calidad de productos farmacéuticos : Un compendio de lineamientos y asuntos relacionados., Reporte N° 34 : Organización Mundial de la Salud, Ginebra, (Serie de Reportes Técnicos 1 (863) 1997.
3. Food and Drug Administration (F.D.A.): Bioavailability and Bioequivalence Requerimientos. E.E.U.U. Federal Register 1985; 25.
4. Food and Drug Administration (F.D.A.): Bioavailability and Bioequivalence Requerimientos. E.E.U.U. Federal Register 1977; 42: 1624-1653.
5. Shah V, Lesko L. : Current Challenges and Future Regulatory Directions in *In vitro Dissolution*. Drug Inf J : 1995; 29: 885-891.
6. Welling PG, Forgue ST, Cook JA, Vries TM. : In Vitro-In Vivo Correlations- Quo Vadis. Drug Inf J : 1995; 29: 893-902.
7. Leeson L. : In Vitro/ In Vivo Correlations. Drug Inf J: 1995; 29: 903-915.
8. Gibaldi M. : Bioavailability. In: Biopharmaceutics and Clinical Pharmacokinetics. 1991; 4: 1-61.
9. Oser BL, Melnick D, Hochberg M. : Physiological Availability of the vitamins. Study of methods for determining availability in pharmaceutical products. Industrial Eng Anal Chem Educ. 1945: 405-411.
10. Food and Drug Administration (F.D.A.). : United States Pharmacopeia . E.E.U.U. United States Pharmacopeial Convention, 1970.
11. Wagner JG. : Fundamentals of Clinical Pharmacokinetics. E.E.U.U. Drug Intellingence Publications 1975: 344-345.
12. Doménech J, Martínez J, Plá J. : Biofarmacia y Farmacocinética II. España. 1997: 19-94.
13. Food and Drug Administration (F.D.A.): Guidance on Statistic procedures for bioequivalence studies using a standard two- treatment crossover design. Division of Bioequivalence, E.E.U.U. Office of Generic Drugs Center for Drug Evaluation and Research. F.D.A., 1992.
14. Hellriegel E, Bjornsson Th, Hauck W.: *Interpatient variability in bioavailability is related to the extend of absorption : Implications for bioavailability and bioequivalence studies*. Clin Pharm Ther. 1996; 60 (6): 601-607.
15. Committee for Proprietary Medicinal Products (CPMP): Investigation of Bioavailability and Bioequivalence Clinical Guidelines. Guidelines on the quality safety and efficacy of medicinal products for human use. In: *The Rules Governing Medicinal Products in the European Community*.

- Commission of the European Communities III. 1992; (2).
16. Liu JP, Chow SCH. : Replicated Crossover Designs in Bioavailability and Bioequivalence Trials. *Drug Inf J* 1995; 29:871-884.
 17. Food and Drug Administration (F.D.A.): Guidance for Industry. In vivo bioequivalence studies based on population and individual bioequivalence approaches. E.E.U.U. Department of Health and Administration Center for Drug Evaluation and Research, 1997.
 18. Chow SCH, Lui JP.: Recent Statistical Developments in Bioequivalence Trials. A review of the F.D.A. Guidance. *Drug Inf J* 1994; 28: 851-864.
 19. Vuorinen J, Turunen J. : A simple three-step procedure for parametric and nonparametric assessment of bioequivalence. *Drug Inf J.* 1998;31:167-180.
 20. Van Baak MA. : Influence of Exercise on the Pharmacokinetics of Drug. *Clin Pharmacok.* New Zelanda. 1990; 19: 32-43.
 21. Chan K, Gibaldi M.: Assessment of Drug Absorption After Oral Administration. *J Pharm Sc* 1985; 74: 388-392.
 22. Flórez J. : *Farmacología Humana*. 3ª Edición; Barcelona, Editorial Masso S.A. ; 1997: 1145-1151.
 23. Goodman A, Gilman. : *Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica* ; 8ª Edición, México, Editorial Médica Panamericana; 1993: 3-68.
 24. Fleisher D, Li Ch, Zhou Y, Pao LH, Karim A.: Drug, Meal and Formulation Interactions Influencing Drug Absorption After Oral Administration. *Clin Pharmacok*, New Zelanda 1999; 36 : 233-254.
 25. Brazzell R, Colburn W. Controversy I : Patients or Healthy Volunteers for Pharmacokinetic Studies ? . *J Clin Pharmacol* 1986; 26 : 242-47.
 26. Koup J. : Disease States and Drug Pharmacokinetics. In *Pharmacokinetic Series*. *J Clin Pharmacol* 1989; 29 : 674-679.
 27. Giudicelli JF, Tillment JP. : Influence of Sex on Drug Kinetics in Man. *Clin Pharmacok* 1977; 2 :157-166.
 28. Back D, Orme M. : Pharmacokinetic Drug Interactions with Oral Contraceptives. *Clin Pharmacokinet New Zelanda* 1990; 18 : 472-484.
 29. Chen M L, Williams R. : Women in Bioavailability/Bioequivalence - A Regulatory Perspective 1995; 29 : 813-820.
 30. Gallicano K, Sahai J. : Lack of gender effect on ciprofloxacin pharmacokinetics in humans. *Br J Clin Pharmacol* 1996; 42: 632-634.
 31. McQueen Ch, Williams G. : Effects of Quinolone Antibiotics in Test for Genotoxicity. *Am J Med* 1987; 82 (suppl 4A) : 94-97.
 32. Sanford B. : Practical and Clinical Applications. *Pharmaceutical Statistics. Sample Size and Power*. In *Drug Pharm Sc* 1984; 44 (2) :187-209.
 33. Westlake WJ. : Symmetrical confidence intervals for bioequivalence trials. *Biometrics* 1976; 32: 741-744.

34. Schuirmann D. : A comparison of the two one sided test procedure and the power approach for assessing the equivalence of average bioavailability. *J Pharmacok Biopharm* 1987; 15: 657-680.
35. Carné X. : El cálculo del número de pacientes necesarios en la planificación de un estudio clínico. *Medicina Clínica* 1989; 92: 72-75.
36. Gibaldi M, Perrier D. : Absorption, Kinetics and Bioavailability. In: *Pharmacokinetics, Drug Pharm Sc* 1982; 15.
37. International Conference on Harmonisation: Final Draft Guideline for Validation of Analytical Procedures. *Methodology* 1996.
38. Sachs I. : *Estadística Aplicada*. Barcelona, Editorial Labor, 1978.
39. Food and Drug Administration (F.D.A.): Guidance on Statistic procedures for bioequivalence studies using a standard two- treatment crossover design. División of Bioequivalence, E.E.U.U. Office of Generic Drugs Center for Drug Evaluation and Research. 1990.
40. Wijnand HP. : Bioequivalence revisited : non parametric analysis of two-period crossover studies. *Comp Methods Programs Biomed* 1993; 40 : 249-259.
41. Rauws A. : Bioequivalence : A European Community regulatory perspective In : *Pharmaceutical Bioequivalence Drugs and the Pharmaceutical Sciences* 1991; 48 : 419-441.
42. Schall R, Williams RL. : Towards practical strategy for assessing individual bioequivalence. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics* 1998; 24 : 133-149.
43. Endrenyi L.. A Simple Approach for the Evaluation of Individual Bioequivalence. *Drug Information Journal* 1995; 29 : 847-855.
44. Gich I. : Toma de decisión en ensayos de bioequivalencia: parámetros directos o con transformación logarítmica (Datos sin publicar). *España* 1998: 3-13.
45. Therapeutic Goods Administration (TGA) : Australian Guidelines for the Registration of Drugs: Prescription and other specified drug products 1992; 1.