



Instituto de  
MATEMÁTICA  
E ESTATÍSTICA

UFRGS



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE MATEMÁTICA E ESTATÍSTICA  
DEPARTAMENTO DE ESTATÍSTICA

**TAMANHO DE AMOSTRA E PODER PARA ENSAIOS DE BIOEQUIVALÊNCIA MÉDIA  
UTILIZANDO O PACOTE *POWERST***

**MONIKA ÁVILA SOHNE**

Porto Alegre  
2021



**MONIKA ÁVILA SOHNE**

**TAMANHO DE AMOSTRA E PODER PARA ENSAIOS DE  
BIOEQUIVALÊNCIA MÉDIA UTILIZANDO O PACOTE *POWERST***

Trabalho de Conclusão apresentado à comissão de Graduação do Departamento de Estatística da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, submetido como requisito parcial para a obtenção do grau de bacharel

Orientadora: Profa. Dra. Stela Maris de Jezus Castro

Porto Alegre  
2021

Instituto de Matemática e Estatística  
Departamento de Estatística



**Tamanho de Amostra e Poder em Ensaio de Bioequivalência Média  
utilizando o Pacote *PowerTOST***

Monika Ávila Sohne

Banca examinadora:

Profa. Dra. Vanessa Bielefeldt Leotti  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul



## Índice:

RESUMO .....	5
Abstract:.....	6
Introdução .....	7
Formulações Genéricas no Brasil .....	8
<i>BIODISPONIBILIDADE/BIOEQUIVALÊNCIA</i> .....	9
MÉTODO TOST PARA TESTAR BIOEQUIVALÊNCIA MÉDIA.....	12
DELINEAMENTO CROSSOVER.....	15
DELINEAMENTO CROSSOVER 2X2 EM ESTUDO DE BIOEQUIVALÊNCIA MÉDIA .....	16
TAMANHO DE AMOSTRA PARA DELINEAMENTO CROSSOVER EM UM ESTUDO DE BIOEQUIVALÊNCIA MÉDIA .....	21
Pacote <i>PowerTOST</i> .....	22
OUTROS DELINEAMENTOS DO PACOTE <i>PowerTOST</i> .....	27
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	28
REFERÊNCIAS .....	30
ANEXO 1 .....	33
ANEXO 2 .....	35
ANEXO 3.....	36

## RESUMO

No intuito de auxiliar pesquisadores a calcular tamanho de amostra e poder para estudos de bioequivalência média através do pacote *PowerTOST* do R, neste trabalho são revisitados os conceitos e legislações relacionados a esta área no Brasil. O trabalho é focado no delineamento experimental que é preconizado pela ANVISA para a liberação de medicamentos genéricos, o delineamento Crossover 2X2, aplicado para as medidas farmacocinéticas Área sob a curva (ASC) e Concentração máxima ( $C_{max}$ ). Para este contexto, é apresentado e discutido como se calcula tamanho de amostra e poder através de algumas funções do pacote *PowerTOST*. Assim, a parte final deste trabalho, demonstra a utilização do pacote citado com um exemplo prático, facilitando o uso do mesmo e as decisões iniciais de dimensionamento de amostra e cálculo do poder estatístico, antes do início dos ensaios.

Palavras chave: bioequivalência, crossover 2X2, *PowerTOST*, tamanho de amostra, poder estatístico.

## **Abstract:**

In order to assist research on sample size and power for studies of average bioequivalence through the *PowerTOST* do R package, in this work the concepts and legislation related to this area in Brazil are revisited. The work is focused on the experimental design that is recommended by ANVISA for the release of generic drugs, the Crossover 2X2 design, designed for the pharmacokinetic measures Area under the curve (ASC) and Maximum concentration (Cmax). For this context, it is presented and discussed how to calculate the sample size and power through some functions of the *PowerTOST* package. Thus, the final part of this work, demonstrates the use of the mentioned package with a practical example, facilitating the use of the package and as initial decisions for sizing the sample and calculating the statistical power, before the beginning of the tests.

Keywords: bioequivalence, 2X2 crossover, *PowerTOST*, sample size, statistical power.

## Introdução

No Brasil, os genéricos foram implantados a partir de 10 de fevereiro de 1999, com a entrada em vigor da Lei dos Genéricos (Brasil, Lei 9.787 de 1999). Esta lei possibilitou a entrada de novos conceitos ainda não implementados, como biodisponibilidade relativa ou bioequivalência, comprovada por ensaios *in vitro* (Araújo LU, et al. 2010).

O registro dos medicamentos genéricos viabilizou a publicação da Resolução da Diretoria do Colegiado 134 em 2003 (RDC 134/2003), Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA)<sup>1</sup> a partir do qual os fabricantes farmacêuticos são obrigados a cumprir os requisitos de equivalência farmacêutica e de biodisponibilidade relativa, de acordo com um cronograma elaborado considerando o conceito de risco sanitário (cronograma de adequação) (Brasil, RDC 134 de 2003).

Após os testes de adequação, o medicamento genérico que passar nos testes exigidos pela ANVISA é considerado bioequivalente em relação ao medicamento referência (R) ao qual tenha sido comparado (Araújo LU, et al. 2010).

A Lei dos Genéricos, integrando a Política Nacional de Medicamentos, é voltada ao estímulo da concorrência e da variedade de oferta de medicamentos no mercado, à melhoria da qualidade dos medicamentos, à redução dos preços e, especialmente, à facilitação do acesso aos tratamentos terapêuticos por parte da população (Nishimura, FCY, et al, 2009; Storpitis, S, et al, 2008). No Brasil, como na Europa e nos Estados Unidos, a política de incentivo ao registro e ao uso de genéricos tem-se mostrado eficaz na regulação do preço dos medicamentos, favorecendo o direito de escolha do consumidor (Araújo LU, et al. 2010).

Assim como os genéricos facilitam o acesso a medicamentos, o software livre R trouxe uma grande flexibilidade para quem atua, ou precisa atuar, com estatística. Por ser livre o software é acessível a todos, basta fazer o *download* e aprender a utilizar a ferramenta. Por ser gratuito, ele é continuamente alimentado de novos pacotes com os mais variados focos de interesses estatísticos. No caso deste trabalho, o pacote de interesse é o *PowerTOST* (Labes, Schütz, e Lang 2021) (R: The R Project for Statistical Computing [s.d.]), pois traz uma variedade de funções que viabilizam os cálculos de poder estatístico e tamanho de amostra para estudos de bioequivalência.

---

<sup>1</sup> A ANVISA é uma agência reguladora caracterizada pela independência administrativa, estabilidade de seus dirigentes durante o período de mandato e autonomia financeira. As propostas de atos normativos da ANVISA podem ser submetidas a consulta pública, a critério da diretoria colegiada, e podem transformar-se em resolução da diretoria colegiada (RDC), que tem força de lei. As resoluções específicas (REs) são atos normativos publicados após discussão e aprovação por uma gerência específica da ANVISA.

O objetivo deste trabalho é mostrar as particularidades que rodeiam testes de bioequivalência média (exigência da ANVISA para liberação de genéricos), a interpretação destes testes e como chegar nos dados necessários e utilizá-los para proceder aos cálculos de tamanho de amostra e poder estatístico, considerando o delineamento recomendado pela Agência para os testes de bioequivalência média no mercado brasileiro, que é o delineamento Crossover 2X2.

O texto deste trabalho é baseado no “Manual de boas Práticas para Bioequivalência/Biodisponibilidade. Etapas: clínica, analítica e estatística” da ANVISA, de 2002.

## **Formulações Genéricas no Brasil**

Quando estudos da indústria farmacêutica, em animais, mostram resultados promissores para uma nova droga (nova molécula ou princípio ativo), e esta parece efetiva e segura em relação aos seus efeitos, naturalmente ela é conduzida para sequencialmente ser testada em humanos. Se os testes do medicamento, resultem favoráveis (efetivos e seguros) ao consumo humano, a droga é posteriormente colocada à venda pelo mercado farmacêutico. E assim surge uma nova droga, ou uma droga inovadora.

Estes novos medicamentos passam por fases de comercialização após os estudos pré-clínicos e clínicos visando a avaliação de eficácia e segurança como já citado; em seguida há um período de patente e sua vigência, quando a farmacêutica responsável pela descoberta da molécula possui a exclusividade de comercialização do produto; e ao findar o prazo de patente, outras empresas podem, também, comercializar o produto sob forma de medicamento similar e/ou genérico.

Medicamentos genéricos são similares a um produto de referência ou inovador, e que pretende ser intercambiável com este último. Normalmente o genérico passa a ser produzido após a expiração ou renúncia da proteção de patente ou de outros direitos de exclusividade.

A prática de comercialização dos medicamentos genéricos, é positiva (Pitta, L.R.; 2004), pois visa o aumento de produção de medicações nacionais, minimizando os monopólios de produção das empresas multinacionais, e contribuindo, principalmente, com a queda de preços, favorecendo assim o acesso aos medicamentos por parte da população mais desfavorecida. Entretanto, esta comercialização, para genéricos ou similares, possui uma legislação que obriga as farmacêuticas a comprovarem a equivalência de seus produtos aos originais, ditos inovadores (RDCs 133 e 134, 2003). Ou seja, é possível a comercialização por várias empresas, de várias formulações de uma substância ativa, desde que apresentem qualidade e performance semelhantes, sendo possível a



intercambiabilidade entre as diferentes formulações, quando administradas em doses equivalentes à inovadora, e com a mesma eficácia e segurança desta última.

A detecção da intercambiabilidade é alcançada produzindo-se estudos de equivalência farmacêutica e/ou de bioequivalência.

## **BIODISPONIBILIDADE RELATIVA OU BIOEQUIVALÊNCIA**

Pode-se definir a biodisponibilidade relativa ou bioequivalência como a comparação de medicamentos administrados via extravascular avaliados pela comparação de parâmetros farmacocinéticos relacionados à biodisponibilidade, neste caso, quantidade absorvida e velocidade de absorção. Por exemplo, compara-se dois medicamentos administrados em diferentes indivíduos da mesma forma, com a mesma composição e quantidade de princípio ativo, e na mesma dose molar, sendo um deles o medicamento referência e o outro o teste (de Inspeção & de Medicamentos, 2002). Esta comparação usualmente é realizada através da diferença ou razão entre as médias das medidas farmacocinéticas entre o medicamento teste e o medicamento referência.

Pode-se dizer, então, que medicamentos bioequivalentes são tais que administrados da mesma forma, com a mesma composição e quantidade de princípio ativo, e na mesma dose molar, em mesmas condições experimentais, não apresentam diferenças estatisticamente significativas em relação à biodisponibilidade relativa.

Um estudo de bioequivalência refere-se basicamente à comparação das principais medidas farmacocinéticas observadas no experimento. A Resolução Específica nº 478, da ANVISA, de 19 de março de 2002 estabelece três medidas fundamentais à determinação da bioequivalência entre medicamentos (Figura 1): a área sob a curva de concentração *versus* tempo (ASC), a concentração máxima observada ( $C_{max}$ ), e o tempo no qual essa concentração foi alcançada ( $T_{max}$ ).

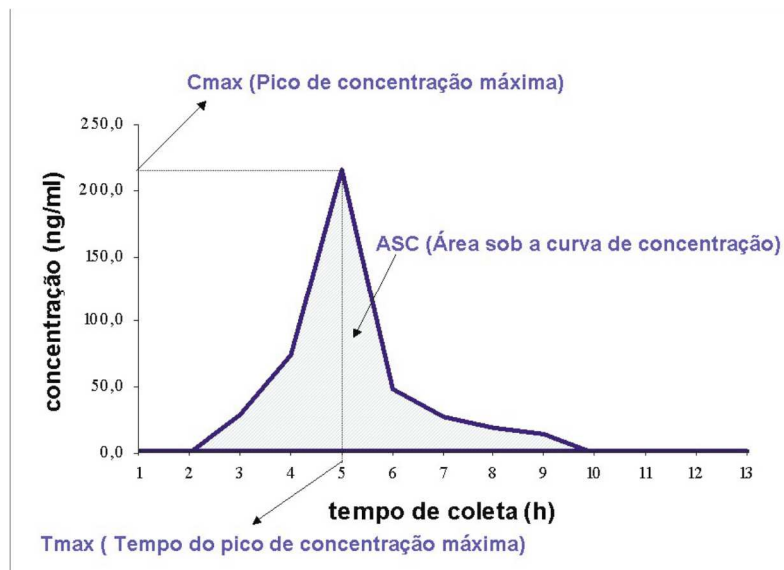


Figura 1. Principais medidas farmacocinéticas para bioequivalência, medidas tomadas de um único indivíduo

(Figura retirada do Manual de Boas Práticas em Biodisponibilidade e Bioequivalência: etapa clínica, analítica, estatística, 2002)

Estudos de bioequivalência valem-se de voluntários humanos, normalmente saudáveis, que devem estar cientes dos potenciais riscos e benefícios dos produtos. E estes estudos possuem três fases: clínica, analítica e estatística.

A fase clínica vai desde preparação dos grupos e medicações que serão utilizados, até sua administração.

Já a fase analítica, mede as amostras de fluidos biológicos, retirados dos voluntários, e gera os dados que serão validados pelos métodos estatísticos de análise. Durante o desenrolar de um método analítico são necessários alguns cuidados importantes que passam desde a extração das amostras biológicas, preparo, separação, purificação, identificação e quantificação do fármaco nos fluidos. Estes cuidados garantem a qualidade dos dados coletados, nas análises posteriores (de Inspeção & de Medicamentos, 2002).

Após a fase analítica, vem a fase estatística. Nesta fase se faz a descrição dos dados coletados, passando por sua organização e análise estatística no intuito de corroborar a hipótese de interesse da pesquisa. Aqui os dados são analisados de acordo com os direcionamentos estatísticos, respeitando o delineamento que estiver sendo utilizado.

Os métodos de análise estatística para bioequivalência são os de bioequivalência média, bioequivalência individual e bioequivalência populacional. O primeiro considera a análise sob o enfoque das médias das formulações R (Referência) e T (Teste), enquanto que os últimos consideram a variabilidade existente nas medidas farmacocinéticas. A bioequivalência média é o método mais comumente utilizado (Van Peer, A; 2009).

Os métodos estatísticos de bioequivalência média surgiram no fim da década de 70 e início da década de 80, como consequência dos esforços do FDA (*Food and Drug Administration*) de apontar as necessidades de métodos apropriados de avaliação estatística dos estudos de bioequivalência. Os principais desenvolvimentos foram a reformulação das hipóteses de bioequivalência (Anderson e Hauck, 1983; Schuirmann, 1981), o método do intervalo de confiança (Meltzer, 1974; Westlake, 1972, 1976 e 1981) e a abordagem bayesiana (Rodda e Davis, 1980; Madallaze Mau, 1981). Diversos estudos têm sido realizados desde então para análise de bioequivalência com estudos comparativos dos métodos; podemos citar Hauck e Anderson (1992) entre eles. Chow e Liu (1992) apresentaram a primeira edição do livro *Design and Analysis of Bioavailability and Bioequivalence Studies*, incluindo já seus estudos realizados nesta área. Em 2000, foi publicada a segunda edição, com apresentação dos métodos de análise de bioequivalência.

O método de bioequivalência média é o método padronizado no manual confeccionado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA (de Inspeção & de Medicamentos 2002), tanto em testes de hipóteses como em intervalos de confiança.

A análise é feita considerando as medidas farmacocinéticas área sob a curva da concentração da substância no plasma *versus* tempo (ASC) e a concentração máxima (Cmax) atingida pela substância. A ANVISA recomenda e exige apenas assegurar bioequivalência utilizando o método de bioequivalência média. Este método considera apenas as médias das medidas farmacocinéticas estudadas para os medicamentos testados. Assim, segundo Chow and Liu (2000), não é possível assegurar a intercambiabilidade entre os medicamentos teste (mais de um produto teste) em termos de eficácia e segurança, ou seja, se dois medicamentos teste são comparados com o mesmo medicamento referência através do método de bioequivalência média, não podemos afirmar que estes dois medicamentos sejam intercambiáveis, entre si, apesar de serem bioequivalentes ao referência.

É possível analisar as médias de duas formulações R e T, e compará-las à luz das hipóteses

$$H_0: \mu_R = \mu_T$$

$$H_0: \mu_R \neq \mu_T$$

onde  $\mu_R$  é a resposta média da formulação referência e  $\mu_T$  é a resposta média da formulação referência, e avaliá-las através de um teste estatístico. Entretanto, para verificar a bioequivalência entre as formulações, estas hipóteses não estão adequadas, uma vez que a não rejeição de  $H_0$  conclui pela igualdade das formulações, mas isso não implica na bioequivalência.

A ideia de bioequivalência implica na verificação da biodisponibilidade, em taxa e extensão de absorção do fármaco. É sabido que a biodisponibilidade de uma formulação pode variar dentro do mesmo indivíduo e por isso se trabalha com a avaliação em termos médios. Então, utilizando as médias populacionais  $\mu_R$  e  $\mu_T$  de alguma das medidas farmacocinéticas, as formulações serão consideradas bioequivalentes se a diferença ( $\mu_T - \mu_R$ ) ou a razão ( $\mu_T/\mu_R$ ) entre elas estiverem a menos que os limites especificados (a regra de  $\pm 20\%$ , em relação à formulação de referência, é a mais comumente usada), Resolução Específica 898 de 2003 (*Scentryphar Clinical Research*, [s.d.]). E este é o método denominado de bioequivalência média. Pode-se analisar os estudos de bioequivalência média utilizando os dados brutos (não transformados) quando estes atendem à suposição de normalidade, ou trabalhar com os dados transformados por logaritmo, ou outras transformações, quando a suposição de normalidade não está atendida.

## MÉTODO TOST PARA TESTAR BIOEQUIVALÊNCIA MÉDIA

O método para testar da bioequivalência média foi proposto por Schuirmann (1987) e recebeu o nome TOST (*Two-One-Sided-Tests*) porque o processo de decisão se o intervalo de 90% de confiança para a diferença entre as médias de cada medida farmacocinética (ASC e Cmax) sob as formulações T e R, respectivamente, está contido entre os limites aceitáveis é equivalente a rejeitar simultaneamente as hipóteses nulas unilaterais (as quais preconizam a não bioequivalência) ao nível de 5% de significância.

Se o parâmetro de interesse for a diferença entre duas médias, as hipóteses para o teste de bioequivalência média são:

$$H_{01}: (\mu_T - \mu_R) \leq \theta_{inf} \quad \textit{versus} \quad H_{a1}: (\mu_T - \mu_R) > \theta_{inf}$$

$$H_{02}: (\mu_T - \mu_R) \geq \theta_{sup} \quad \textit{versus} \quad H_{a2}: (\mu_T - \mu_R) < \theta_{sup}$$

onde  $\theta_{inf}$  é o limite inferior e  $\theta_{sup}$  é o limite superior para a diferença entre as médias teste e referência.

Caso o parâmetro de interesse seja a razão entre duas médias, as hipóteses para o teste de bioequivalência média são:

$$H_{01}: (\mu_T/\mu_R) \leq \delta_{inf} \quad \textit{versus} \quad H_{a1}: (\mu_T/\mu_R) > \delta_{inf}$$

$$H_{01}: (\mu_T/\mu_R) \geq \delta_{sup} \quad \textit{versus} \quad H_{a1}: (\mu_T/\mu_R) < \delta_{sup}$$

onde  $\delta_{inf}$  é o limite inferior e  $\delta_{sup}$  é o limite superior para a razão entre as médias teste e referência.

A rejeição de  $H_{01}$  e  $H_{02}$  conclui em bioequivalência média entre os fármacos.

Os limites aceitáveis de bioequivalência dependem de se estar trabalhando com os dados transformados ou não transformados e de se optar por utilizar a diferença  $(\mu_T - \mu_R)$  ou a razão  $(\mu_T/\mu_R)$  como parâmetros de comparação entre as formulações teste e referência.

No caso de dados não transformados e do parâmetro diferença entre duas médias  $(\mu_T - \mu_R)$ , os limites aceitáveis de bioequivalência média são definidos pelo intervalo de bioequivalência expresso como  $\theta_{inf} < (\mu_T - \mu_R) < \theta_{sup}$ . Considerando a regra de  $\pm 20\%$  (RE 898, 2003; *Scentryphar Clinical Research*, [s.d.]) em relação à formulação de referência, os limites são  $\theta_{inf} = -0,20 \times \mu_R$  e  $\theta_{sup} = +0,20 \times \mu_R$ , ou seja,

$$-0,20 \times \mu_R < (\mu_T - \mu_R) < +0,20 \times \mu_R \quad (1)$$

Estes limites também podem ser expressos em unidades da diferença entre as médias, ou seja,  $\theta_{inf} = -0,20$  e  $\theta_{sup} = +0,20$ .

Ainda no caso de dados não transformados, mas agora utilizando o parâmetro razão entre duas médias  $(\mu_T/\mu_R)$ , os limites aceitáveis de bioequivalência média são definidos pelo intervalo de bioequivalência expresso como  $\delta_{inf} < (\mu_T/\mu_R) < \delta_{sup}$ . Dividindo a expressão (1) por  $\mu_R$  se obtém:

$$-0,20 < \frac{(\mu_T - \mu_R)}{\mu_R} < +0,20 \rightarrow -0,20 < \left(\frac{\mu_T}{\mu_R}\right) - 1 < +0,20 \rightarrow 0,8 < \left(\frac{\mu_T}{\mu_R}\right) < 1,2.$$

Logo, os limites aceitáveis de bioequivalência são  $\delta_{inf} = 0,8$  e  $\delta_{sup} = 1,2$ , isto é,

$$0,8 < \left(\frac{\mu_T}{\mu_R}\right) < 1,2 \quad (2)$$

Muitas vezes, as medidas farmacocinéticas utilizadas nos estudos de bioequivalência média, tais como a área sob a curva de concentração *versus* tempo (ASC) e a concentração máxima observada ( $C_{max}$ ) não seguem uma distribuição Normal. Geralmente, o uso da transformação logarítmica nestas medidas resolve este problema, logo é comum a utilização de dados transformados (por logaritmo) nos estudos de bioequivalência média.

No caso de dados transformados e do parâmetro diferença entre duas médias, a bioequivalência é demonstrada se o intervalo de 90% de confiança para  $(\mu_T - \mu_R)$  estiver dentro dos limites aceitáveis  $+\ln(0.8) = -0,2231$  e  $+\ln(1.25) = +0,2231$ , sendo que estes estão expressos em unidades da diferença entre as médias. Estes limites são regulados pela RDC 134/2003.

Definindo  $\tilde{\mu} = \exp(\mu)$ , onde  $\tilde{\mu}$  é a média geométrica da medida farmacocinética na escala original e  $\mu$  é a média aritmética da medida transformada na escala logarítmica, pode se aplicar a função exponencial nos limites  $+\ln(0.8) = -0,2231$  e  $+\ln(1.25) = +0,2231$ , e assim obter os limites inferior e superior aceitáveis para o intervalo de confiança para  $(\tilde{\mu}_T - \tilde{\mu}_R)$ , isto é,

$$0,8 < (\tilde{\mu}_T - \tilde{\mu}_R) < 1,25 \quad (3)$$

Observa-se que a simetria do intervalo de confiança está na escala logarítmica, não na escala original. O Quadro 1 mostra os limites aceitáveis de bioequivalência média para dados transformados em cada contexto.

Quadro 1. Limites aceitáveis de bioequivalência para diferença entre médias em dados transformados por logaritmo

Parâmetro	Limites aceitáveis		Contexto para os limites de 90% de confiança estimados para a diferença entre as médias
	Inferior	Superior	
$(\mu_T - \mu_R)$	-0,2231	+0,2231	Limites na escala logarítmica resultante do modelo misto ajustado para a medida farmacocinética transformada.
$(\tilde{\mu}_T - \tilde{\mu}_R)$	0,8	1,25	Limites na escala original após aplicar a função exponencial nos limites resultantes do modelo misto ajustado para a medida farmacocinética transformada.

Ainda no contexto de dados transformados, mas considerando o parâmetro razão entre as duas médias geométricas, pode ser visto em Haidar et.al. (2008) e no guia do FDA (Food & Administration, 2008) que a bioequivalência é alcançada se o intervalo de 90% de confiança para  $(\tilde{\mu}_T / \tilde{\mu}_R)$  também estiver dentro dos limites aceitáveis 0,8 e 1,25, ou seja,

$$0,8 < (\tilde{\mu}_T / \tilde{\mu}_R) < 1,25 \quad (4)$$

De um modo geral, se o intervalo de confiança  $100(1 - 2\alpha)\%$  para o parâmetro diferença ou razão entre as médias das formulações teste e referência estiver dentro dos limites aceitáveis recomendados pela agência reguladora adotada, se tem a conclusão pela bioequivalência.

## DELINEAMENTO CROSSOVER

Em estudos de bioequivalência, o delineamento mais comumente utilizado é o Crossover, pois ele é capaz de identificar e isolar a variabilidade interindividual, ou seja, as diferenças biológicas e/ou fisiológicas entre os indivíduos, nos grupos de tratamento.

O Crossover é um delineamento em blocos aleatorizados onde cada bloco pode ser um indivíduo ou um grupo de indivíduos. Cada sequência recebe o tratamento com as mesmas drogas, porém em ordem diferente, em cada período do experimento. O ganho na utilização dos estudos nessa modalidade são:

1. Cada bloco (ou os indivíduos que o compõem) será seu próprio controle, controlando assim a variabilidade interindividual entre os tratamentos. Isso geralmente aumenta o poder do teste;
2. Com a devida aleatorização para as sequências de tratamentos, o delineamento obtém as melhores estimativas não viciadas para medidas de efeito (diferença ou razão entre as médias da droga teste e da droga referência).

É recomendado pela legislação nacional vigente (de Inspeção & de Medicamentos 2002), como delineamento experimental, para bioequivalência, o crossover 2X2 (duas formulações – Referência e Teste, em duas sequências e dois períodos); salvo se um delineamento paralelo ou outro seja mais apropriado por motivos científicos válidos. No delineamento paralelo cada indivíduo recebe ao acaso somente uma das formulações estudadas, enquanto no Crossover cada indivíduo recebe as duas formulações em períodos diferentes.

As recomendações e diretrizes nacionais estabelecidas pela ANVISA são respaldadas pela Resolução 196/96/MS/CNS (Ministério da Saúde / Conselho Nacional de Saúde), de 1996. Esta resolução, e as demais que a complementam, fornecem orientações aos pesquisadores para desenvolver de forma ética pesquisas com seres humanos. O Anexo 1 traz uma lista de legislações brasileiras a respeito de Bioequivalência.

## DELINEAMENTO CROSSOVER 2X2 EM ESTUDO DE BIOEQUIVALÊNCIA MÉDIA

Considere o exemplo (retirado de Clayton and Leslie, 1981) que consiste de duas formulações de eritromicina comparadas utilizando um delineamento crossover 2X2, ou seja, duas formulações analisadas em duas sequências de administração e em dois períodos:

- Formulação Teste (T): Estearato de Eitromicina [ Eritromicina®, 500 mg tabletes ovalados, 6316, Abbot Australasia Pty. Ltd.], e
- Formulação Referência (R): Eritromicina Base [ Eryc®, 2X250 mg cápsulas, contendo pílulas revestidas, F.H. Faulding & Co. Ltd.]

Nove indivíduos foram randomizados para a sequência (TR), isto é, receberam no primeiro período a formulação Teste (T) e no segundo período a formulação Referência (R), enquanto os outros nove foram randomizados para a sequência (RT). Um período de uma semana separou os dois períodos (este período é chamado de *washout*, comumente utilizado para a eliminação do efeito do primeiro tratamento aplicado em cada indivíduo). Amostras de sangue foram coletadas da forma que segue: uma antes da administração das drogas, e depois a 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 3,0; 4,0; 6,0 e 8,0 horas após a administração. As variáveis de interesse ASC e  $C_{MAX}$  estão dispostas na tabela 1.



Tabela 1: Medidas farmacocinéticas do exemplo, por tratamento e por período.

Sequência	Sujeito	Sequência	Período 1		Período 2	
			ASC	Cmax	ASC	Cmax
TR	1	TR	2,52	1,04	5,47	1,58
	2	TR	8,87	3,8	4,48	1,35
	3	TR	0,79	0,12	2,25	0,77
	4	TR	1,68	0,62	1,82	1,23
	5	TR	6,95	2,92	7,87	2,25
	6	TR	1,05	0,16	3,25	0,85
	7	TR	0,99	0,28	12,39	3
	8	TR	5,6	2,62	4,77	2,05
	9	TR	3,16	1,51	1,88	0,6
RT	10	RT	4,98	1,61	3,019	1,37
	11	RT	7,14	1,98	9,83	3,74
	12	RT	1,81	0,56	2,91	1,16
	13	RT	7,34	2,4	4,58	1,79
	14	RT	4,25	1,04	7,05	2,51
	15	RT	6,66	2,67	3,41	1,55
	16	RT	4,76	1,47	2,49	0,82
	17	RT	7,16	1,9	6,18	2,57
	18	RT	5,52	2,47	2,85	1,07

O modelo estatístico ajustado para a análise deste delineamento crossover 2X2 é um modelo misto definido por:

$$y_{ijk} = \mu + S_k + I_{i(k)} + P_j + F_{(j,k)} + R_{(j-1;k)} + \varepsilon_{ijk} \quad (5)$$

onde:

- $y_{ijk}$ : é a variável resposta do  $i$ -ésimo indivíduo, no  $j$ -ésimo período e na  $k$ -ésima sequência (no exemplo,  $y_{ijk}$  pode ser a ASC ou  $C_{MAX}$ );
- $\mu$ : média geral;
- $S_k$ : efeito fixo da  $k$ -ésima sequência,  $k = 1, 2$  e  $\sum S_k = 0$ ;
- $I_{i(k)}$ : efeito aleatório do  $i$ -ésimo indivíduo na  $k$ -ésima sequência, onde  $i = 1, 2, \dots, 9$  e  $k = 1, 2$ ;
- $P_j$ : efeito fixo do  $j$ -ésimo período,  $j = 1, 2$ , e  $\sum P_j = 0$ ;
- $F_{(j,k)}$ : efeito fixo da formulação administrada na  $k$ -ésima sequência e  $j$ -ésimo período, tal que,  $\sum F_{(j,k)} = 0$ ;
- $R_{(j-1;k)}$ : efeito residual fixo de primeira ordem da formulação administrada na  $k$ -ésima sequência e  $(j-1)$ -ésimo período, tal que  $R_{(0;k)} = 0$  e  $\sum R_{(j-1;k)} = 0$ ;
- $\varepsilon_{ijk}$ : erro aleatório (variação intraindivíduo).

Suposições do modelo:

Assume-se que os efeitos aleatórios  $\{I_{i(k)}\}$  e  $\{\varepsilon_{ijk}\}$  são independentes, identicamente distribuídos (i.i.d), seguindo a distribuição Normal com média zero e variâncias  $\sigma_I^2$  e  $\sigma^2$ , respectivamente. Assume-se também que  $\{I_{i(k)}\}$  e  $\{\varepsilon_{ijk}\}$  são mutuamente independentes. As estimativas de  $\sigma_I^2$  são geralmente usadas para estimar a variabilidade entre os indivíduos dentro de sequência, enquanto que as estimativas de  $\sigma^2$  são usadas para estimar a variabilidade intraindividual (dentro do mesmo indivíduo).

---

## Observações:

1. Efeitos residuais ( $R_{(j-1;k)}$  – efeito residual fixo no modelo (5)): A existência de efeito residual significa que existem efeitos residuais diferentes nas sequências de tratamentos. Em princípio, o período de eliminação (*washout*) deve controlar estes efeitos. A inexistência do efeito residual não implica necessariamente que tais efeitos sejam nulos, mas que, se existirem, têm a mesma intensidade em ambas sequências de tratamentos.

Para este efeito se testa a hipótese de

$$H_0: R_T = R_R \quad \textit{versus} \quad H_1: R_T \neq R_R$$

Quando não existem efeitos residuais, os efeitos das formulações podem ser estimados com base nos dois períodos.

2. Efeito da Droga ou Formulação ( $F_{(j,k)}$  – efeito fixo de formulação no modelo (5)):

Este efeito é testado comparando as médias ajustadas de cada formulação, que podem ser distintas das médias diretas de R e T caso em que  $n_1 \neq n_2$  (onde  $n_1$  é o número de indivíduos da primeira sequência, e  $n_2$  é o número de indivíduos da segunda sequência).

As hipóteses para se testar a igualdade das formulações são

$$H_0: F_T = F_R \quad \textit{versus} \quad H_1: F_T \neq F_R$$

Na prática é possível avaliar a bioequivalência entre formulações, mesmo na presença de efeitos residuais das drogas. Entretanto, perde-se poder na detecção de diferenças significativas, pois a variabilidade é aumentada; e desconsiderar os dados do segundo período (que remove a variabilidade interindividual entre formulações) elimina os benefícios do uso do delineamento crossover.

3. Efeito de período ( $P_j$  – efeito fixo de período no modelo (5)).

Analogamente, aqui testa-se a hipótese de igualdade contra a de desigualdade

$$H_0: P_1 = P_2 \quad \textit{versus} \quad H_1: P_1 \neq P_2$$

Para o ajuste do modelo misto aos dados do exemplo serão utilizados os logaritmos das medidas farmacocinéticas ASC e  $C_{MAX}$ , pois os resíduos dos modelos com os dados brutos não mostraram aderência à suposição de normalidade.

Supondo que o período de *washout* tenha eliminado qualquer efeito residual da formulação utilizada no período 1 de cada sequência, o modelo misto ajustado para os dados da Tabela 1 é o modelo (5) sem o efeito residual:

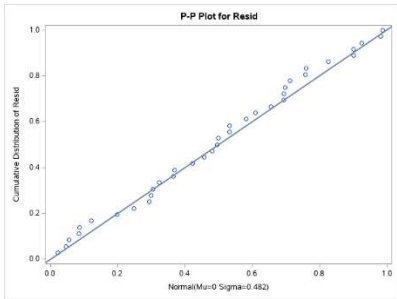
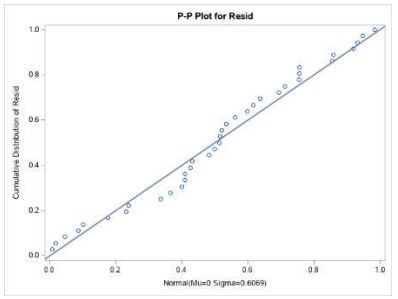
$$y_{ijk} = \mu + S_k + I_{i(k)} + P_j + F_{(j,k)} + \varepsilon_{ijk} \quad (6)$$

Os resultados dos modelos mistos ajustados para as medidas farmacocinéticas estão apresentados no Quadro 2, o ajuste foi realizado no SAS Studio (*SAS Studio | SAS*, [s.d.]) e a sintaxe utilizada encontra-se disponível no Anexo 2.

Considerando 5% de significância, os dados não evidenciam efeito significativo para nenhum dos efeitos fixos nos modelos ajustados para as duas medidas farmacocinéticas (Quadro 2). Com isso, pode-se concluir que não exista diferença significativa entre as respostas médias das medidas farmacocinéticas para sequência, período e formulação.

No entanto, para comprovar bioequivalência entre a formulação Teste e a formulação Referência, de acordo com o método TOST, é necessário que os intervalos de 90% de confiança para a diferença entre as médias T e R estejam dentro do intervalo de 0,8 a 1,25, para as duas medidas farmacocinéticas. Fazendo a exponencial dos limites inferior e superior para as diferenças médias apresentadas no Quadro 2, chega-se no intervalo de 90% para as diferenças médias entre T e R para as medidas farmacocinéticas ASC e  $C_{MAX}$ . Observando estes intervalos no Quadro 2, pode-se perceber facilmente que nenhum deles está contido no intervalo de 0,8 a 1,25, logo se conclui que não existe bioequivalência entre as formulações Teste e Referência.

Quadro 2: Resultados dos modelos ajustados para as medidas farmacocinéticas.

	Log ASC	Log Cmax																								
<b>Variâncias</b> $\sigma_i^2$ e $\sigma^2$	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Variância</th> <th>Estimativa</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Sujeito(Sequência)</td> <td>0.1002</td> </tr> <tr> <td>Residual</td> <td>0.3154</td> </tr> </tbody> </table>	Variância	Estimativa	Sujeito(Sequência)	0.1002	Residual	0.3154	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Variância</th> <th>Estimativa</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Sujeito(Sequência)</td> <td>0.1243</td> </tr> <tr> <td>Residual</td> <td>0.4851</td> </tr> </tbody> </table>	Variância	Estimativa	Sujeito(Sequência)	0.1243	Residual	0.4851												
Variância	Estimativa																									
Sujeito(Sequência)	0.1002																									
Residual	0.3154																									
Variância	Estimativa																									
Sujeito(Sequência)	0.1243																									
Residual	0.4851																									
<b>Testes dos efeitos fixos do modelo (6)</b>	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Efeito</th> <th>Valor F</th> <th>Pr &gt; F</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Sequência</td> <td>2.55</td> <td>0.1301</td> </tr> <tr> <td>Período</td> <td>0.56</td> <td>0.4649</td> </tr> <tr> <td>Formulação</td> <td>3.30</td> <td>0.0883</td> </tr> </tbody> </table>	Efeito	Valor F	Pr > F	Sequência	2.55	0.1301	Período	0.56	0.4649	Formulação	3.30	0.0883	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Efeito</th> <th>Valor F</th> <th>Pr &gt; F</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Sequência</td> <td>2.53</td> <td>0.1315</td> </tr> <tr> <td>Período</td> <td>1.25</td> <td>0.2804</td> </tr> <tr> <td>Formulação</td> <td>1.11</td> <td>0.3068</td> </tr> </tbody> </table>	Efeito	Valor F	Pr > F	Sequência	2.53	0.1315	Período	1.25	0.2804	Formulação	1.11	0.3068
Efeito	Valor F	Pr > F																								
Sequência	2.55	0.1301																								
Período	0.56	0.4649																								
Formulação	3.30	0.0883																								
Efeito	Valor F	Pr > F																								
Sequência	2.53	0.1315																								
Período	1.25	0.2804																								
Formulação	1.11	0.3068																								
<b>Médias ajustadas das formulações R e T</b>	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Formulação</th> <th>Estimativa</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>T</td> <td>1.1768</td> </tr> <tr> <td>R</td> <td>1.5166</td> </tr> </tbody> </table>	Formulação	Estimativa	T	1.1768	R	1.5166	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Formulação</th> <th>Estimativa</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>T</td> <td>0.1474</td> </tr> <tr> <td>R</td> <td>0.3925</td> </tr> </tbody> </table>	Formulação	Estimativa	T	0.1474	R	0.3925												
Formulação	Estimativa																									
T	1.1768																									
R	1.5166																									
Formulação	Estimativa																									
T	0.1474																									
R	0.3925																									
<b>Diferença entre os logaritmos das médias das formulações T e R</b>	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Estimativa</th> <th>Erro Padrão</th> <th>Alpha</th> <th>Inferior</th> <th>Superior</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>-0.3398</td> <td>0.1872</td> <td>0.1</td> <td>-0.6667</td> <td>-0.01301</td> </tr> </tbody> </table>	Estimativa	Erro Padrão	Alpha	Inferior	Superior	-0.3398	0.1872	0.1	-0.6667	-0.01301	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Estimativa</th> <th>Erro Padrão</th> <th>Alpha</th> <th>Inferior</th> <th>Superior</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>-0.2451</td> <td>0.2322</td> <td>0.1</td> <td>-0.6504</td> <td>0.1602</td> </tr> </tbody> </table>	Estimativa	Erro Padrão	Alpha	Inferior	Superior	-0.2451	0.2322	0.1	-0.6504	0.1602				
Estimativa	Erro Padrão	Alpha	Inferior	Superior																						
-0.3398	0.1872	0.1	-0.6667	-0.01301																						
Estimativa	Erro Padrão	Alpha	Inferior	Superior																						
-0.2451	0.2322	0.1	-0.6504	0.1602																						
<b>IC 90% para <math>exp(\mu_T - \mu_R)</math></b>	(0.513 – 0.987)	(0.521 – 1.173)																								
<b>Gráfico de Probabilidade Normal dos resíduos dos modelo (6)</b>																										

## TAMANHO DE AMOSTRA PARA DELINEAMENTO CROSSOVER EM UM ESTUDO DE BIOEQUIVALÊNCIA MÉDIA

Uma questão de muito interesse é a de quantos indivíduos são necessários para conduzir um experimento de bioequivalência média que apresente um poder mínimo razoável (80% ou 90%, por exemplo) e estabelecendo a relação desejada entre as formulações Teste e Referência dentro de limites considerados aceitáveis. Para dados não transformados de 80% a 120%, e para dados transformados de 80% a 125% – RDC 360/03).

O cálculo do tamanho de amostra para um estudo de bioequivalência média precisa de informações relativas ao agente ativo em estudo, como a variabilidade do fármaco nos indivíduos medido pelo coeficiente de variação (CV), o tamanho mínimo de efeito que se quer detectar (apresentado como diferença ou razão entre as médias das formulações T e R), os limites inferior e superior aceitáveis para a diferença ou a razão entre as médias das formulações T e R, o nível de significância e o poder desejados, e o delineamento a ser utilizado no estudo.

O pacote *PowerTOST* disponibiliza inúmeras funções para o cálculo de tamanho de amostra (e funções análogas para cálculo de poder estatístico) em diferentes contextos de estudos de bioequivalência. Dentre os argumentos das diferentes funções disponíveis para cálculo de tamanho de amostra e poder do *PowerTOST*, o coeficiente de variação (CV) aparece em todas, pois é a medida de variabilidade (intraindivíduo no caso de delineamento crossover) necessária para a efetivação destes cálculos.

O valor do CV que deve ser utilizado como argumento das funções que calculam tamanho de amostra pode ser obtido na literatura da área, onde estes valores geralmente são publicados. Caso, nestes estudos, o valor do CV não esteja disponível, mas os intervalos de 90% de confiança de estudos de bioequivalência estejam, o *PowerTOST* oferece uma função que calcula o CV a partir destas medidas. Também, caso sejam encontrados estudos com diferentes valores para o CV, o *PowerTOST* disponibiliza uma função para calcular um CV agrupado (*pooled*).

Em algumas situações, na literatura da área podem ser encontrados os resultados do modelo misto ajustado para um estudo de bioequivalência. Dentre estes resultados publicados, existem alguns em especial que são úteis para que se possa obter o CV deste estudo de bioequivalência.

Como obter o CV, a partir dos resultados do modelo ajustado para o estudo de bioequivalência, pode ser visto em Mohsen M.A. (2010). O autor se utiliza de duas formas para calcular o CV: uma para o modelo aditivo (medidas farmacocinéticas não transformadas), e outra para o modelo multiplicativo (medidas farmacocinéticas transformadas por logaritmo). As expressões

para o cálculo do CV intraindivíduo necessário para os cálculos de tamanho de amostra e poder podem ser visualizadas no Quadro 3.

Quadro 3. Coeficiente de variação Intraindivíduo para estudos de bioequivalência média em delineamento Crossover.

Modelo	Medidas farmacocinéticas	CV
Aditivo	Escala original	$CV = \frac{\sqrt{\hat{\sigma}^2}}{\bar{y}_R}$
Multiplicativo	Transformação logarítmica	$CV = \sqrt{\exp(\hat{\sigma}^2) - 1}$

Onde  $\hat{\sigma}^2$  é a estimativa da variância residual (intraindivíduo) e  $\bar{y}_R$  é a resposta média estimada da formulação referência.

## Pacote *PowerTOST*

O pacote *PowerTOST*, para vários métodos, disponibiliza funções para calcular o tamanho de amostra baseado nas informações que seguem:

- Nível de significância desejado ( $\alpha$ ),
- coeficiente de variação (CV),
- magnitude de efeito presumida (desvio entre teste e referência -  $\theta_0$ ),
- limites de aceitação  $\{\theta_1, \theta_2\}$ ,
- poder desejado,
- delineamento desejado.

Para todas estas funções, o pacote também oferece funções análogas para efetivar o cálculo de poder. A diferença básica está na troca do argumento 'poder desejado' pelo argumento tamanho da amostra ( $n$ ). (Outros argumentos, bem como as principais linhas de comando estão dispostos no Anexo 3).

Para calcular o tamanho de amostra para um delineamento crossover 2X2 cujo objetivo seja verificar a bioequivalência média entre as mesmas formulações Teste e Referência do exemplo cujos dados estão apresentados na Tabela 1, pode-se utilizar a função 'sampleN.TOST' do pacote *PowerTOST*.

Os argumentos da função 'sampleN.TOST' necessários para o cálculo do tamanho de amostra estão resumidos no Quadro 4.

Quadro 4. Argumentos da função 'sampleN.TOST' do pacote *PowerTOST*.

Argumento	O que significa	Default
alpha =	Nível de significância desejado ( $\alpha$ )	0.05
logscale =	Definição do tratamento para a variável resposta: <ul style="list-style-type: none"> <li>TRUE – dados transformados</li> <li>FALSE – dados na escala original</li> </ul>	TRUE
CV =	Valor do coeficiente de variação respeitando a definição de tratamento da variável resposta: <ul style="list-style-type: none"> <li>logscale = TRUE <math>\rightarrow CV = \sqrt{\exp(\hat{\sigma}^2) - 1}</math></li> <li>logscale = FALSE <math>\rightarrow CV = \frac{\sqrt{\hat{\sigma}^2}}{\bar{x}_R}</math></li> </ul>	-
theta0	<ul style="list-style-type: none"> <li>logscale = TRUE <math>\rightarrow</math> valor presumido da razão (<math>\mu_T / \mu_R</math>)</li> <li>logscale = FALSE <math>\rightarrow</math> valor presumido da diferença (<math>\mu_T - \mu_R</math>)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>0.95</li> <li>-0.05</li> </ul>
theta1	Limite inferior de bioequivalência: <ul style="list-style-type: none"> <li>logscale = TRUE <math>\rightarrow</math> expresso como uma razão</li> <li>logscale = FALSE <math>\rightarrow</math> expresso como diferença de médias em relação à média da referência</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>0.8</li> <li>-0.2</li> </ul>
Theta2	Limite superior de bioequivalência: <ul style="list-style-type: none"> <li>logscale = TRUE <math>\rightarrow</math> expresso como uma razão</li> <li>logscale = FALSE <math>\rightarrow</math> expresso como diferença de médias em relação à média da referência</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>1.25</li> <li>+0.2</li> </ul>
targetpower =	Poder mínimo desejado	0.8
design =	Texto definindo o delineamento desejado	"2x2"
method =	Método para o cálculo do poder	"exact"
robust =	Como os graus de liberdade serão utilizados. Se TRUE, serão utilizados de acordo com a avaliação 'robusta' (detalhes no Anexo 3)	FALSE
print =	Definição para a apresentação dos resultados da função	TRUE
details =	Definição para a apresentação dos resultados da função incluindo detalhes sobre o delineamento escolhido, cálculo de poder para mais que um tamanho de amostra e método para cálculo de poder utilizado.	FALSE
imax =	Número de etapas utilizadas no processo de cálculo do tamanho de amostra.	100

Os coeficientes de variação necessários para o cálculo do tamanho de amostra serão obtidos através dos dados disponibilizados no Quadro 3 com os resultados do estudo de bioequivalência média para os dados da Tabela 1.

Quadro 5. Coeficientes de Variação para os dados da Tabela 1.

Medidas farmacocinéticas	Variância residual*	CV
Log ASC	0.3154	$CV = \sqrt{\exp(\hat{\sigma}^2) - 1} = \sqrt{\exp(0.3154) - 1} = 0.61$
Log Cmax	0.4851	$CV = \sqrt{\exp(\hat{\sigma}^2) - 1} = \sqrt{\exp(0.4851) - 1} = 0.79$

\* Medidas retiradas do Quadro 2.

O tamanho de amostra necessário para um estudo de bioequivalência média, utilizando um delineamento crossover 2x2, com um poder mínimo de 80%, para a medida farmacocinética 'Log ASC', pode ser obtido como segue:

sampleN.TOST(CV = 0.61, logscale = TRUE, details = TRUE)

```
+++++++ Equivalence test - TOST ++++++
```

```
Sample size estimation
```

```
-----
Study design: 2x2 crossover
```

```
Design characteristics:
```

```
df = n-2, design const. = 2, step = 2
```

```
log-transformed data (multiplicative model)
```

```
alpha = 0.05, target power = 0.8
```

```
BE margins = 0.8 ... 1.25
```

```
True ratio = 0.95, CV = 0.61
```

```
Sample size search (ntotal)
```

```
n power
```

```
138 0.802239
```

```
136 0.796467
```

```
138 0.802239
```

```
Exact power calculation with
```

```
Owen's Q functions.
```



Agora, o mesmo cálculo para a medida farmacocinética 'Log C<sub>max</sub>':

sampleN.TOST(CV = 0.79, logscale = TRUE, details = TRUE)

```
+++++++ Equivalence test - TOST ++++++
```

```
Sample size estimation
```

```
-----  
Study design: 2x2 crossover
```

```
Design characteristics:
```

```
df = n-2, design const. = 2, step = 2
```

```
log-transformed data (multiplicative model)
```

```
alpha = 0.05, target power = 0.8
```

```
BE margins = 0.8 ... 1.25
```

```
True ratio = 0.95, CV = 0.79
```

```
Sample size search (ntotal)
```

```
n power
```

```
212 0.804423
```

```
210 0.800722
```

```
208 0.796947
```

```
210 0.800722
```

```
Exact power calculation with
```

```
Owen's Q functions.
```

O tamanho mínimo de amostra necessário para a medida farmacocinética 'Log ASC' é  $n_{LogASC} = 138$  e para a medida 'Log C<sub>max</sub>' é  $n_{LogC_{max}} = 210$ . A função calcula o tamanho de amostra para vários valores aproximados do poder desejado (neste caso o *default*) de 0,8; o último tamanho de amostra apresentado é aquele associado a um poder mais próximo do valor 0,8. Como para concluir pela bioequivalência média entre as formulações Teste e Referência é necessário que os intervalos de 90% de confiança destas duas medidas farmacocinéticas estejam dentro dos limites de aceitação, o valor mínimo de amostra deverá ser 210 indivíduos.

No exemplo para os dados da Tabela 1, o tamanho de amostra foi de 18 indivíduos. Como ilustração, pode-se calcular o poder do estudo de bioequivalência média para as duas medidas farmacocinéticas utilizadas, considerando a magnitude de efeito alcançada por cada medida, respectivamente.

- Poder para o 'Log ASC':

power.TOST(CV =, 0.61, n = 18, logscale = TRUE, theta0 = 0.7)

```
[1] 0.0004934161
```

- Poder para o 'Log C<sub>max</sub>':

power.TOST(CV = 0.79, n = 18, logscale = TRUE, theta0 = 0.78)

[1] 0.0001152395

Pode-se observar que com 18 indivíduos, tanto para a medida 'Log ASC' como para a medida 'Log C<sub>max</sub>', o poder do estudo de bioequivalência média foi extremamente baixo, sendo, aproximadamente, 0,05% e 0,01%, respectivamente. Cabe salientar que os coeficientes de variação do estudo de bioequivalência dos dados da Tabela 1 são bem maiores que o valor mínimo preconizado para as formulações, que é um CV menor que 30% (Davit et al., 2012).

A ANVISA recomenda que, para estudos de bioequivalência média cujos coeficientes de variação estejam entre 14% e 22%, o tamanho mínimo de amostra seja igual a 24 indivíduos, considerando um tamanho de efeito de 0% ou 5%, e poder de 80% ou 90% (de Inspeção & de Medicamentos, 2002). A Tabela 2 mostra o poder do estudo de bioequivalência, considerando os modelos multiplicativo e aditivo, para diferentes tamanhos de amostra e coeficiente de variação de 20%. Pode-se observar, que fixando um poder mínimo de 80%, o tamanho mínimo de amostra é igual a 24 indivíduos, assim como preconizado pela ANVISA. No entanto, esta recomendação não é válida para estudos de bioequivalência onde os coeficientes de variação sejam maiores.

Tabela 2: Poder de estudos de bioequivalência, considerando um coeficiente de variação de 20%.

<b>Delineamento</b>	<b>n (Tamanho de amostra)</b>	<b>Poder (%) (modelo multiplicativo)</b>	<b>Poder (%) (modelo aditivo)</b>
2 X 2	12	56,60	41,77
	16	73,54	60,18
	20	83,46	72,20
	<b>24</b>	<b>89,60</b>	<b>80,29</b>
	28	93,48	85,96
	32	95,95	90,02
	36	97,50	92,94

## OUTROS DELINEAMENTOS DO PACOTE *PowerTOST*

Além do delineamento crossover 2X2, o pacote *PowerTOST* oferece funções que realizam os cálculos de tamanho de amostra e poder para vários outros delineamentos crossover, um delineamento paralelo e um pareado.

Os delineamentos abrangidos pelo pacote estão descritos no Quadro 6.

Quadro 6. Delineamentos disponibilizados pelo pacote *PowerTOST*.

<b>Delineamento</b>	<b>Nome</b>	<b>Significado</b>
parallel	2 grupos paralelos	2 formulações (T e R) aplicadas a 2 grupos independentes de indivíduos
2x2 ou 2x2x2	Crossover 2x2	2 formulações aplicadas nos mesmos indivíduos, em 2 sequências, em 2 períodos
3x3	Crossover 3x3	2 formulações aplicadas em indivíduos, em 3 sequências, em 3 períodos
3X6X3	Crossover 3X6X3	3 (R, T <sub>1</sub> , T <sub>2</sub> ) formulações aplicadas em indivíduos, em 6 sequências, em 3 períodos
4X4	Crossover 4X4	2 formulações aplicadas em indivíduos, em 4 sequências, em 4 períodos
2X2X3	Crossover 2X2X3 replicado	2 formulações aplicadas em indivíduos, em 2 sequências, em 3 períodos (replicado, pois os voluntários recebem pelo menos uma formulação replicada)
2X2X4	Crossover 2X4X4 replicado	2 formulações aplicadas em indivíduos, em 4 sequências, em 4 períodos (replicado, pois os voluntários recebem pelo menos uma formulação replicada)
2X3X3	Crossover 2X3X3 replicado	2 formulações aplicadas em indivíduos, em 3 sequências, em 3 períodos (replicado, pois os voluntários recebem pelo menos uma formulação replicada)
2X3X3	Réplicas parciais (2X3X3)	2 formulações aplicadas em indivíduos, em 3 sequências, em 3 períodos
2X4X2	Crossover 2X4X2 experimento de Balaam	2 formulações aplicadas em indivíduos, em 4 sequências, em 2 períodos
2X2X2r	2X2X2 Cossover repetido de Liu	2 formulações aplicadas em indivíduos, em 2 sequências, em 2 períodos
paired	Médias Pareadas	Médias pareadas em cada grupo

OBS.: Quando aparecem somente dois números, se supõe 2 tratamentos

Além dos produtos medicamentosos de administração extravascular via oral, existem outros como produtos de via intramuscular, subcutânea, transdérmicas e outros. Alguns destes produtos possuem absorção rápida ou diferenciada, e podem ser considerados produtos de alta variabilidade ( $CV \geq 30\%$ )(de Inspeção & de Medicamentos, 2002). Por isso o pacote oferece outras funções, não abordadas aqui, mas que permitem utilizar os limites de aceitação para bioequivalência expandidos. Estes limites, assim como os já abordados aqui para ABE (*Average Bioequivalence*), são padronizados de acordo com o órgão regulador que os utiliza.

Alguns dos órgãos reguladores mais importantes considerados no pacote, e que podem ser acessados pelo argumento *regulator*, são listados abaixo:

EMA – *European Medical Association*, associação europeia

FDA – *Food and Drug Administration*, Estados Unidos,

HC – *Health Canada*, Canadá,

GCC – *Gulf Cooperation Council*, países do Golfo Pérsico (Arábia Saudita, Kwait, Emirados Árabes, Omar, Bahrain, Qatar).

O padrão utilizado pelo pacote *PowerTOST* é o “EMA”, e a ANVISA segue os mesmos valores deste padrão (*default*) usados no pacote.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A possibilidade de aumento da concorrência na indústria farmacêutica que foi proporcionada pela Lei dos Genéricos, e a definição de um órgão regulador (ANVISA) se tornaram de grande importância para a população brasileira. Quanto mais o tempo passa, desde o início dessa legislação, muitas outras REs e RDCs foram criadas complementando as leis iniciais. Hoje podemos contar com a proficiência técnica de farmacêuticos que conhecem e realizam os protocolos consolidados, diariamente, e com um guia detalhado contendo as etapas para a realização da bioequivalência. A evolução dessa área apenas aumenta a acessibilidade das pessoas a medicamentos com menor custo, mas com qualidade.

Foi abordado aqui o modelo mais utilizado para a bioequivalência, que é também o recomendado pela ANVISA, o modelo de ensaio de bioequivalência média com delineamento Crossover 2X2, para o qual foram apresentadas suas principais características e exigências.

Se buscou um pacote do R que pode complementar as decisões dos pesquisadores de maneira rápida e eficiente, que ainda contém os limites dos órgãos regulatórios a escolher. Ele permite realizar os cálculos necessários para estabelecer o tamanho da amostra e o poder estatístico, mínimo ou desejado.

Essas decisões são importantes, pois todo o planejamento de ensaios tem um custo. Nesse quesito o delineamento crossover 2X2 apresenta grandes vantagens: é simples de ser realizado, não precisa de um número muito grande de voluntários, possui apenas dois períodos (o que diminui o percentual de desistências) e ainda apresenta nos resultados valores em que o voluntário é controle dele mesmo.

Delineamentos de ordem superior ou grande variabilidade produzem pesquisas mais caras e que exigem mais controles dos voluntários. Infelizmente, nem sempre é possível utilizar o delineamento mais simples. Mas na grande maioria dos casos é possível. Entretanto, é de suma importância que o delineamento escolhido seja o adequado para alcançar resultados fidedignos.

Foram caracterizados os elementos essenciais para o dimensionamento de amostras e o cálculo de poder baseados em estudos anteriores, utilizando um software livre procurando facilitar a compreensão e utilização do pacote disponibilizado para os cálculos necessários neste contexto.

## REFERÊNCIAS:

ABDEL MOHSEN, Mahmoud. A Note on the Calculation of Intrasubject Coefficient of Variation in Bioequivalence Trails. **Journal of Bioanalysis & Biomedicine**, v. 02, n. 04, 2010. Disponível em: <<https://www.omicsonline.org/a-note-on-the-calculation-of-intrasubject-coefficient-of-variation-in-bioequivalence-trails-1948-593X.1000026.php?aid=343>>. Acesso em: 8 maio 2021.

ARAÚJO, Lorena Ulhôa; ALBUQUERQUE, Kemile Toledo de; KATO, Kelly Cristina; *et al.* Medicamentos genéricos no Brasil: panorama histórico e legislação. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 28, p. 480–492, 2010.

BRAGA, Daniela Monteiro. Planejamento e análise de estudos de bioequivalência: comparação de delineamentos do tipo cross-over. p. 117, .

CHELLINI, Paula Rocha. BOAS PRÁTICAS ESTATÍSTICAS EM ESTUDOS DE BIOEQUIVALÊNCIA COM DELINEAMENTO CROSSOVER 2X2. p. 82, .

DAVIT, Barbara M.; CHEN, Mei-Ling; CONNER, Dale P.; *et al.* Implementation of a reference-scaled average bioequivalence approach for highly variable generic drug products by the US Food and Drug Administration. **The AAPS journal**, v. 14, n. 4, p. 915–924, 2012.

DE CARVALHO, Luciana Neves; DA ROCHA, Thomaz Augusto Alves; MARTINEZ, Luis Lopez. Análise da capacitação para o desenvolvimento de estudos Fase I pelos Centros de Bioequivalência certificados pela Anvisa no Brasil/Analysis of training for the development of Phase I studies by Anvisa certified Bioequivalence Centers in Brazil. **Arquivos Médicos dos Hospitais e da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo**, v. 63, n. 2, p. 61–68, 2018.

DE INSPEÇÃO, Gerência-Geral; DE MEDICAMENTOS, Controle. Manual de boas práticas em biodisponibilidade e bioequivalência: etapa clínica, analítica, estatística. *In: Manual de boas práticas em biodisponibilidade e bioequivalência: etapa clínica, analítica, estatística.* [s.l.: s.n.], 2002.

FOOD, U. S.; ADMINISTRATION, Drug. **Guidance for industry. Bioavailability and bioequivalence studies for orally administered drug products-General considerations. Revision 1, March 2003.** [s.l.: s.n.], 2008.

HAIDER, S. H.; DAVIT, B.; CHEN, M. L.; *et al.* Bioequivalence approaches for highly variable drugs and drug products. **Pharm Res**, v. 25, n. 1, p. 237–41, 2008.  
JONES, Byron; KENWARD, Michael G. **Design and analysis of cross-over trials.** [s.l.]: CRC press, 2014.

LABES, Detlew; SCHÜTZ, Helmut; LANG, Benjamin. **Power and Sample Size for (Bio)Equivalence Studies [R package PowerTOST version 1.5-3].** Disponível em: <<https://CRAN.R-project.org/package=PowerTOST>>. Acesso em: 26 maio 2021.

NACIONAL, Imprensa. **RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA - RDC Nº 278, DE 16 DE ABRIL DE 2019 - Imprensa Nacional.** Disponível em: <<https://www.in.gov.br/materia>>. Acesso em: 14 maio 2021.

NISHIMURA, FRANCIELLI DE CÁSSIA YUKARI; TYIO, ROGÉRIO. Deveres e atribuições da profissão farmacêutica. **REVISTA UNINGÁ**, v. 21, n. 1, 2009.

O'KEEFE, Daniel J. Brief report: post hoc power, observed power, a priori power, retrospective power, prospective power, achieved power: sorting out appropriate uses of statistical power analyses. **Communication methods and measures**, v. 1, n. 4, p. 291–299, 2007.

OLIVEIRA, Jorge José Lima. Métodos Estatísticos Aplicados em Estudos de Bioequivalência Média. p. 119, .

PITTA, Luciana da Rocha. **Estudo dos métodos estatísticos na análise da biodisponibilidade relativa/bioequivalência para o registro de medicamentos no Brasil**. PhD Thesis, 2004.

SANTOS, Rodolfo Rodrigo Pereira; SIQUEIRA, Arminda Lucia; BRAGA, Daniela Monteiro. COMPARAÇÃO DE DELINEAMENTOS DO TIPO CROSSOVER EM ESTUDOS DE BIOEQUIVALÊNCIA. p. 5, .

SCHUIRMANN, Donald J. A comparison of the two one-sided tests procedure and the power approach for assessing the equivalence of average bioavailability. **Journal of pharmacokinetics and biopharmaceutics**, v. 15, n. 6, p. 657–680, 1987.

SENN, Stephen S. **Cross-over trials in clinical research**. [s.l.]: John Wiley & Sons, 2002.

STORPIRTIS, S.; BUENO, M. M. A vigilância sanitária e a política nacional de medicamentos no Brasil: medicamentos genéricos, similares e novos. **Storpiartis S, Mori ALPM, Yochiy A, Ribeiro E, Porta V. Farmácia clínica e atenção farmacêutica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan**, p. 25–36, 2008.

VAN PEER, Achiel. Variability and impact on design of bioequivalence studies. **Basic & clinical pharmacology & toxicology**, v. 106, n. 3, p. 146–153, 2010.  
153aa760-5abc-4325-8ec5-95e6b43b35ad.pdf. Disponível em:  
<[http://antigo.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RE\\_1170\\_2006.pdf/153aa760-5abc-4325-8ec5-95e6b43b35ad?version=1.0](http://antigo.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RE_1170_2006.pdf/153aa760-5abc-4325-8ec5-95e6b43b35ad?version=1.0)>. Acesso em: 14 maio 2021.

**Brasil. Lei 9787/1999. Disponível em: [www.anvisa.gov.br/hotsite/genericos/legis/leis/9787.htm](http://www.anvisa.gov.br/hotsite/genericos/legis/leis/9787.htm). Acessado em 12 de dezembro de 2008. - Pesquisa Google.** Disponível em:  
<[https://www.google.com/search?rlz=1C1LENN\\_pt-BRBR766BR766&sxsrf=ALeKk01EkHH1vi6FOy9O3gt0Q1XqpMR\\_2g:1620737578788&q=Brasil.+Lei+9787/1999.+Dispon%C3%ADvel+em:+www.anvisa.gov.br/hotsite/genericos/+legis/leis/9787.htm.+Acessado+em+12+de+dezembro+de+2008.&spell=1&sa=X&ved=2ahUKEwjmiqH91cHwAhUXIbkGHRPaBpIQBSgAegQIARA2&biw=1366&bih=625](https://www.google.com/search?rlz=1C1LENN_pt-BRBR766BR766&sxsrf=ALeKk01EkHH1vi6FOy9O3gt0Q1XqpMR_2g:1620737578788&q=Brasil.+Lei+9787/1999.+Dispon%C3%ADvel+em:+www.anvisa.gov.br/hotsite/genericos/+legis/leis/9787.htm.+Acessado+em+12+de+dezembro+de+2008.&spell=1&sa=X&ved=2ahUKEwjmiqH91cHwAhUXIbkGHRPaBpIQBSgAegQIARA2&biw=1366&bih=625)>. Acesso em: 11 maio 2021.

**Brasil. Resolução RDC 134/2003. Disponível em: [e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php](http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php). - Pesquisa Google.** Disponível em:  
<[https://www.google.com/search?q=+Brasil.+Resolu%C3%A7%C3%A3o+RDC+134%2F2003.+Dispon%C3%ADvel+em%3A+e-legis.bvs.br%2Fleisref%2Fpublic%2FshowAct.+php.+&rlz=1C1LENN\\_pt-BRBR766BR766&biw=1366&bih=625&sxsrf=ALeKk013ObV32h2qb-E3KB9L11ZAp1aQ\\_w%3A1620737589998&ei=NX6aYI6tPJ3Z5OUP6sWp-Ak&oq=+Brasil.+Resolu%C3%A7%C3%A3o+RDC+134%2F2003.+Dispon%C3%ADvel+em%3A+e-legis.bvs.br%2Fleisref%2Fpublic%2FshowAct.+php.+&gs\\_lcp=Cgdnd3Mtd2l6EAM6BwgAEecQs](https://www.google.com/search?q=+Brasil.+Resolu%C3%A7%C3%A3o+RDC+134%2F2003.+Dispon%C3%ADvel+em%3A+e-legis.bvs.br%2Fleisref%2Fpublic%2FshowAct.+php.+&rlz=1C1LENN_pt-BRBR766BR766&biw=1366&bih=625&sxsrf=ALeKk013ObV32h2qb-E3KB9L11ZAp1aQ_w%3A1620737589998&ei=NX6aYI6tPJ3Z5OUP6sWp-Ak&oq=+Brasil.+Resolu%C3%A7%C3%A3o+RDC+134%2F2003.+Dispon%C3%ADvel+em%3A+e-legis.bvs.br%2Fleisref%2Fpublic%2FshowAct.+php.+&gs_lcp=Cgdnd3Mtd2l6EAM6BwgAEecQs)>

[ANQgOAHWLuLGCvMqhoAHAEeACAAy8BiAGPAZIBAzAuMZgBA6ABAqABAaoBB2d3cy13aXrIAQjAAQE&sclient=gws-wiz&ved=0ahUKEwjOm82C1sHwAhWdLLkGHepiCp8Q4dUDCA4&uact=5](http://www.gws-wiz.com/ANQgOAHWLuLGCvMqhoAHAEeACAAy8BiAGPAZIBAzAuMZgBA6ABAqABAaoBB2d3cy13aXrIAQjAAQE&sclient=gws-wiz&ved=0ahUKEwjOm82C1sHwAhWdLLkGHepiCp8Q4dUDCA4&uact=5). Acesso em: 11 maio 2021.

**Legislação | ICF.** Disponível em: <<http://www.icf.com.br/legislacao>>. Acesso em: 15 maio 2021.  
**Ministério da Saúde.** Disponível em: <[http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2012/rdc0027\\_17\\_05\\_2012.html](http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2012/rdc0027_17_05_2012.html)>. Acesso em: 14 maio 2021.

R Core Team (2020). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

**re 478 de 2002 - Pesquisa Google.** Disponível em: <[https://www.google.com.br/search?q=re+478+de+2002&sxsrf=ALeKk00hjmWzezgijyp5tNjCUY4z9zGKRkA%3A1620777872705&source=hp&ei=kBubYM3PKPu85OUP5Y-3KA&iflsg=AINFCbYAAAAAYJspoAhrSSS3nUpfIURKwLB5JY2FE8IZ&oq=re+478+de+2002&gs\\_lcp=Cgdnd3Mtd2l6EANQqSRyxIRg1WZoAHAAeACAAfoeiAHXcZIBCzMtMi4zLjEuOS0zmAEAoAEBqgEHZ3dzLXdpeg&sclient=gws-wiz&ved=0ahUKEwjN1\\_CK7MLwAhV7HrkGHeXHDQUQ4dUDCAc&uact=5](https://www.google.com.br/search?q=re+478+de+2002&sxsrf=ALeKk00hjmWzezgijyp5tNjCUY4z9zGKRkA%3A1620777872705&source=hp&ei=kBubYM3PKPu85OUP5Y-3KA&iflsg=AINFCbYAAAAAYJspoAhrSSS3nUpfIURKwLB5JY2FE8IZ&oq=re+478+de+2002&gs_lcp=Cgdnd3Mtd2l6EANQqSRyxIRg1WZoAHAAeACAAfoeiAHXcZIBCzMtMi4zLjEuOS0zmAEAoAEBqgEHZ3dzLXdpeg&sclient=gws-wiz&ved=0ahUKEwjN1_CK7MLwAhV7HrkGHeXHDQUQ4dUDCAc&uact=5)>. Acesso em: 11 maio 2021.

**SAS Studio | SAS.** Disponível em: <[https://www.sas.com/pt\\_br/software/studio.html](https://www.sas.com/pt_br/software/studio.html)>. Acesso em: 29 maio 2021.

**Scentryphar Clinical Research.** Disponível em: <<http://scentryphar.com/portugues/legislation/res898.htm>>. Acesso em: 29 maio 2021.



## ANEXO 1

### Legislação Brasileira sobre Bioequivalência e Biodisponibilidade

- Resolução CNS Nº 466 de 12 de dezembro de 2012 - Bioequivalência  
Diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. Revoga as resoluções CNS nº 196/96, 303/2000 e 404/2008.
- Resolução RDC Nº 27 de 17 de maio de 2012  
Dispõe sobre os requisitos mínimos para a validação de métodos bioanalíticos empregados em estudos com fins de registro e pós-registro de medicamentos.
- Boas Práticas Clínicas - Documento das Américas - Bioequivalência  
Propõe diretrizes para as boas práticas clínicas que podem servir como fundamento para as agências regulatórias, assim como para investigadores, comitês de ética, universidades e empresas.
- Resolução RDC Nº 31 de 11 de agosto de 2010 publicado no DOU  
Dispõe sobre a realização dos Estudos de Equivalência Farmacêutica e de Perfil de Dissolução Comparativo.
- Resolução RDC Nº 48 de 6 de outubro de 2009  
Dispõe sobre realização de alteração, inclusão, suspensão, reativação e cancelamento pós-registro de medicamentos e dá outras providências.
- Instrução Normativa Nº 2 de 30 de março de 2009 - Bioequivalência  
Determina a publicação do Guia para Notificação de Lotes-Piloto de Medicamentos, em anexo.
- Resolução RDC Nº 34 de 3 de junho de 2008  
Institui o Sistema de Informações de Estudos de Equivalência Farmacêutica e Bioequivalência - SINEB e o Cadastro Nacional de Voluntários em Estudos de Bioequivalência - CNVB.
- Resolução RDC Nº 17 de 02 de março de 2007 - Bioequivalência  
Aprova o Regulamento Técnico, em anexo, para registro de Medicamento Similar.
- Resolução RDC nº 16 de 02 de março de 2007  
Aprova o Regulamento Técnico para Medicamentos Genéricos, anexo I. Acompanha esse regulamento o Anexo II, intitulado "Folha de rosto do processo de registro e pós-registro de medicamentos genéricos".  
Resolução RE Nº 1170 de 19 de abril de 2006  
Determina a publicação do "Guia para provas de biodisponibilidade relativa/bioequivalência de medicamentos".
- Resolução RDC Nº. 302 de 13 de outubro de 2005  
Dispõe sobre Regulamento Técnico para funcionamento de Laboratórios Clínicos.

- Resolução RDC Nº 306 de 7 de setembro de 2004  
Dispõe sobre o Regulamento Técnico para o gerenciamento de resíduos de serviços de saúde.
- Resolução RDC Nº 132 de 29 de maio de 2003  
Dispõe sobre o registro de medicamentos específicos.
- Resolução RE Nº 894 de 29 de maio de 2003  
Determina a publicação do "Guia para protocolo e relatório técnico de estudo de bioequivalência".
- Resolução RE Nº 895 de 29 de maio de 2003  
Determina a publicação do "Guia para elaboração de relatório técnico de estudo de biodisponibilidade relativa/bioequivalência".
- Resolução RE Nº 897 de 29 de maio de 2003  
Determina a publicação do "Guia para isenção e substituição de estudos de bioequivalência".
- Resolução RE Nº 898 de 29 de maio de 2003  
Determina a publicação do "Guia para planejamento e realização da etapa estatística de estudos de biodisponibilidade relativa/bioequivalência".
- Resolução RE Nº 899 de 29 de maio de 2003 - Bioequivalência  
Determina a publicação do "Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos".
- Resolução RDC Nº 103 de 8 de maio de 2003  
Estabelece as regras para Certificação de Boas Práticas de Biodisponibilidade/Bioequivalência de Medicamentos.
- Resolução RDC Nº 41 de 28 de abril de 2000  
Estabelece os critérios para aceitação de unidades que realizam ensaios de equivalência farmacêutica, biodisponibilidade e bioequivalência em medicamentos.
- Resolução Nº 251 de 7 de agosto de 1997  
Aprova as normas de pesquisa envolvendo seres humanos para a área temática de pesquisa com novos fármacos, medicamentos, vacinas e testes diagnósticos.

## ANEXO 2

SINTAXE do SAS para o modelo do exemplo:

```
data banco2;
    set banco1;
    log_AUC = log(AUC);
    log_Cmax = log(Cmax);
run;
```

```
proc mixed data=banco2 plots=all;
    class sujeito sequencia periodo formulacao;
    model log_AUC = periodo formulacao;
    random sujeito(sequencia);
    lsmeans formulacao/ pdiff cl alpha = 0.1;
    estimate 'ABE para resposta' formulacao -1 1;
run;
```

```
proc mixed data=banco2 plots=all;
    class sujeito sequencia periodo formulacao;
    model log_Cmax = periodo formulacao;
    random sujeito(sequencia);
    lsmeans formulacao/ pdiff cl alpha = 0.1;
    estimate 'ABE para resposta' formulacao -1 1;
run;
```

## ANEXO 3

### Função `sampleN.TOST`

`library(PowerTOST)`

```
sampleN.TOST(alpha = 0.05, targetpower = 0.8, logscale = TRUE, theta0, theta1,  
             theta2, CV = 0.2, design = "2X2", method = "exact", robust = FALSE,  
             print = TRUE, details = FALSE)
```

Argumentos da função `sampleN.TOST` no (R):

- **alpha** - Nível de significância unilateral. Comumente 0.05.
- **targetpower** - Poder estatístico mínimo a ser atingido. Tem que ser um valor  $>0$  e  $<1$ . Tipicamente é usado 0.8 ou 0.9.
- **logscale** - Para dados transformados (TRUE) ou escala original (FALSE). O padrão é TRUE.
- **theta0 ( $\theta_0$ )** - O 'verdadeiro', ou presumido, valor da razão T/R ou da diferença. Se `logscale=TRUE` deve ser entrado como razão Se `logscale=FALSE`, a diferença da médias. Neste caso a diferença deve ser expressa de duas formas: relativo à média da referência  $(T - R) / R$ , ou  $(T - R) - 1$ ; ou como a diferença entre as médias  $(T - R)$  Note que no primeiro caso as unidade do CV, `tetha1` e `theta2` precisam ser dados relativos à média da referência (especificada como razão). Padrão é 0.95 para `logscale TRUE` ou 0.05 para `logscale=FALSE`
- **theta1 ( $\theta_1$ )** - Limite inferior de bioequivalência. No caso de `logscale=TRUE` é dado em razão e `logscale=FALSE` o limite é a diferença relativa à média referência. Note que neste caso que no primeiro caso as unidade de CV, `tetha20` e `tetha2` também devem ser expressas em unidades relativas à média da referência usada (especificado como razão). Padrão 0.8 para `logscale=TRUE` e -0.2 para `logscale=FALSE`. Dado como razão se `logscale=TRUE` e para `logscale=FALSE` aqui pode ser expresso de duas formas, as unidades da diferença de médias relacionada à média da referência ou simplesmente as unidades de diferença de médias. Note que neste caso que no primeiro caso as unidade de CV, `tetha0` e `tetha1` também devem ser expressas em unidades relativas à média da referência usada (especificado como razão). Se o `tetha2` não for incluído será calculado como  $1/tetha1$  se `logscale=TRUE` e como  $-tetha1$  se `logscale=FALSE`
- `logscale=FALSE`
- **theta2 ( $\theta_2$ )** - Limite superior de aceitação de (bio-)equivalência. Se não denominado, `theta2` será calculado como  $1/theta1$  se `logscale=TRUE` ou como  $-theta1$  se `logscale=FALSE`.

- **CV** - Para `logscale=TRUE`, o coeficiente de variação entra como uma razão, se `logscale=FALSE` o argumento se refere ao desvio padrão (residual) da resposta. Em caso de desvio padrão pode ser expresso de duas formas relativo à média da referência ( $\sigma/\mu_R$ ). Note que neste caso que no primeiro caso as unidades de CV, `tetha0` e `tetha1` também devem ser expressas em unidades relativas à média da referência usada (especificado como razão). Se o `tetha2` não for incluído será calculado como  $1/\text{tetha1}$  se `logscale=TRUE` e como  $-\text{tetha1}$  se `logscale=FALSE`.

Em estudos de crossover este é o CV intra-sujeito, no caso de estudos grupos paralelos é o CV da variabilidade total.

- **desing** - Nome que descreve o delineamento do estudo
- **method** - método usado para o cálculo do poder. Padrão é "exact" neste caso é calculado com base nas fórmulas de Owen's Q. O cálculo por Owen's Q também pode ser escolhido com `method="owenq"`.

Outro método exato, por via direta, usa a distribuição  $t$  não central bivariada e pode ser escolhido com `method="mvt"`. Este método pode ter uma baixa precisão em relação ao Owen's Q e leva mais tempo computacional. Cálculos aproximados podem ser escolhidos via `method="noncentral"` ou `method="nct"` para aproximação usando distribuição  $t$  não centralizada. Com `method="central"` ou `method="shifted"` aproximação via distribuição  $t$  centralizada.

- **robust** - O padrão é FALSE. Com este valor será usado o número de graus de liberdade comum. Se escolher TRUE os graus de liberdade serão usados de acordo com avaliação 'robusta' (aqui o estimador básico de Senn). Estes últimos são calculados como  $n\text{-seq}$ . Só tem efeito para delineamentos crossover de ordem superior
- **print** - Se TRUE (padrão) a função imprime os resultados. Se FALSE o retorno será somente do data frame com o resultado.
- **details** - Se TRUE os delineamentos característicos e os passos durante os cálculos do tamanho de amostra serão mostrados. O padrão é FALSE.