

# Biyoeşdeğerlik Çalışmalarında İstatistiksel Yöntemler ve Bir Uygulama

## Statistical Methods in Bioequivalence Studies and an Application

Dr. Durdu KARASOY<sup>a</sup>  
İlknur GÜNDÜZ<sup>b</sup>

<sup>a</sup>İstatistik Bölümü,  
Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi,  
<sup>b</sup>T.C. Başbakanlık Bilgisayar İşletmeni,  
Ankara

Geliş Tarihi/Received: 05.05.2008  
Kabul Tarihi/Accepted: 09.06.2008

Yazışma Adresi/Correspondence:  
Dr. Durdu KARASOY  
Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi,  
İstatistik Bölümü, Ankara  
TÜRKİYE/TURKEY  
durdu@hacettepe.edu.tr

**ÖZET Amaç:** İstatistiksel hesaplamalar, ilaç geliştirme çalışmalarında araştırmacıların tezlerini ispatlamak amacıyla yaptıkları çalışmanın ana öğelerinden biridir. Deneysel düzeninden son karar verme aşamasına kadar araştırmanın her adımında istatistik yer almaktadır. Bu çalışmada, biyoeşdeğerlik kuramı hakkında bilgi vermek, biyoeşdeğerlikte istatistiksel yöntemleri incelemek ve gerçek verilerle bu yöntemlerin uygulanabilirliğini göstermek amaçlanmıştır. **Gereç ve Yöntemler:** Çalışmaya 24 katılımcı dahil edilmiştir. Test ve referans ilacın biyoeşdeğerliğini göstermek için ortalama, kitle ve bireysel biyoeşdeğerlik yöntemleri kullanılmıştır. **Bulgular:** Biyoeşdeğerlik çalışması için ağrı kesici test ve referans ilaçlar sağlıklı katılımcılara verilmiştir. Katılımcılara oral, tek doz ilaç verilmesinden sonra 10 saat içinde, belirlenen zaman noktalarında alınan kan örneklerine göre analiz yapılmıştır. Toplanan kanlar gerekli işlemlerden geçirildikten sonra -70°C'deki derin dondurucuya yerleştirilmiş ve laboratuvar aşamasında geliştirilen ve doğruluğu kanıtlanmış bir yöntemle ölçüm sıvı içindeki madde yoğunluk değerleri belirlenmiş ve istatistiksel çözümleme aşamasına geçilmiştir. Ortalama biyoeşdeğerlik yönteminde  $C_{max}$  ve  $AUC_{0-\infty}$  parametrelerinin %90 alt ve üst limitlerinin %80-%120 limitlerinin içinde yer aldığı görülmüştür. Ayrıca güç değerleri bire çok yakın bulunmuştur. Kitle ve bireysel biyoeşdeğerlik yöntemlerinde  $C_{max}$  ve  $AUC_{0-\infty}$  parametreleri için test ve referans ilacın fark değerlerinin küçük, oran değerlerinin ise  $\pm 20$  sınırları içinde olduğu ve varyans değerlerinin küçük olduğu görülmüştür. Ortalama, kitle ve bireysel biyoeşdeğerlik yöntemleri sonucunda  $C_{max}$  ve  $AUC$  parametrelerinden biyoeşdeğerliğin 3 yöntem için de sağlandığı görülmüştür. **Sonuç:** Ortalama, kitle ve bireysel biyoeşdeğerlik yöntemleri için test ve referans ilacın biyoeşdeğer olduğu sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Biyoeşdeğerlik; biyoyararlanım

**ABSTRACT Objective:** Statistical calculations are the main parts of a study to prove the thesis of the researches in the drug development researches. Statistical analysis is used in each step of the study, from experimental design to decision and conclusion. The aim of this study was to give information on bioequivalence theory, clarify statistical methods for bioequivalence and show the feasibility of these methods by using the original data. **Material and Methods:** The application of the methods explained in the study was performed using the original data. Twenty-four participants were included in the study. Average, population and individual bioequivalence methods were used for bioequivalence of the test and reference drugs. **Results:** Pain killer test and reference drugs were given to healthy participants for the bioequivalence study. The participants were examined by obtaining blood samples at specific time points during the ten hours following one oral dose of the drug. Blood samples were stored in deep freeze at -70°C after processing. The density values of the elements in the blood were determined by a reliable method. In average bioequivalence method, the 90% lower and upper bound values of  $C_{max}$  and  $AUC_{0-\infty}$  parameters were between 80% and 120%. Besides, power values were close to 1. In population and individual bioequivalence methods, the difference between test and reference drug values were small for  $C_{max}$  and  $AUC_{0-\infty}$  parameters and their proportion values were within the  $\pm 20\%$  interval. In addition, the variance values were small. The average, population and individual bioequivalence methods proved satisfactory for the bioequivalence for  $C_{max}$  and  $AUC_{0-\infty}$  parameters. **Conclusion:** Test and reference drugs were bioequivalent for average, population and individual bioequivalence methods.

**Key Words:** Therapeutic equivalency; biological availability

Turkiye Klinikleri J Med Sci 2008;28:653-662

**I**laç geliştirme araştırmalarında istatistiksel hesaplamalar çalışmanın ana öğelerinden biridir. Deney düzeninden son karar verme aşamasına kadar araştırmanın her adımında istatistik yer almaktadır.

Araştırmacılar herhangi bir hastalığın tedavisinde kullanılmak üzere çeşitli maddelerden oluşan formüller geliştirirler. Bu formüllerin hepsinde belli bir madde ön plandadır. Bu madde “etken madde” olarak adlandırılır. Gerçekte tedavi edici madde, etken madde ya da onun karaciğerden geçerken çeşitli reaksiyonlara uğrayarak oluşan metabolitidir. Diğer maddeler etken maddenin emilimi, kanda kalış süresi gibi olayların istendiği gibi geekleşmesi için kullanılan yardımcı maddelerdir. İki ilacın eşdeğerliğinin ispatı ülkelerin yayınladıkları biyo-eğdeğerlik rehberlerinde belirlenen ölçütlere bağlı kalınarak yapılır.

Biyoeğdeğerlik araştırmalarının başlangıcı 1960’lı yıllara dayanmaktadır. 1970 yılında US FDA “(United States Food and Drug Administration (US FDA)”- Amerika Birleşik Devleti Gıda ve İlaç Kurumu) biyo-eğdeğerlik konusunun belirli standartlara oturtulması için çalışmalara başlamıştır. 1971 yılında “Office of Technology Assessment (OTA)” of the Congress of the United States-Amerika Birleşik Devleti Kongresi Teknoloji Destek Odası), ilaçların kimyasal ve tedavi edici niteliklerinin eşdeğerliğin tartışılması için İlaç Biyo-eğdeğerlik alışmaları Paneli düzenlemiştir. US FDA, bu panel sonucu OTA’nın yayınladığı raporda yer alan tavsiyeleri esas kabul ederek 1977’de “21 CFR Part 320” koduyla bir biyoyararlanım ve biyo-eğdeğerlik yönetmeliği yayınlamıştır.<sup>1</sup>

1971 yılında US FDA’nın isteğiyle Amerikan İstatistik Kurumu da “Amerikan Statistical Association” biyo-eğdeğerlik çalışmalarının istatistiksel çerçevesini belirlemek amacıyla benzer bir biyoyararlanım komitesi toplamıştır. Metzler bu komitenin çalışmalarını özetlemiş, istatistiksel açıdan biyoyararlanım ve biyo-eğdeğerlik konularının çoğuna açıklık getirmiştir.<sup>2</sup> Biyo-eğdeğerliğin sağlanması için kullanılan istatistiksel yöntemlerin önemi 1980’lerde artış göstermiştir. Bu yıllarda meydana gelen en önemli gelişmeler, biyo-eğdeğerlik testlerinin gücünün belirlenmesi, güven

aralığı yöntemi ve Bayes yöntemi olarak özetlenebilir.<sup>2-9</sup>

1984 yılında US FDA, ilk ilacın kopyası olarak üretilen diğer ilaçlara da ruhsat verme yetkisine kavuşmuş ancak bu durum beraberinde birçok problem de getirmiştir. Özellikle geliştirilebilecek yeni istatistiksel yöntemlerin hangi ölçütler baz alınarak değerlendirileceği ve geçerli olup olmayacağı önem kazanmıştır.

Anderson ve Hauck bireysel biyo-eğdeğerlik yöntemi ve kuramı üzerine yoğun çalışmalar yürütmüştür.<sup>10</sup> Bu alışmalar, US FDA (1997) rehberinde yer almıştır.<sup>11</sup>

Yüzyılın sonlarına doğru dünya ilaç pazarında kopya ilaçların rolü fazlasıyla artmıştır. Bu yüzden biyo-eğdeğerlik konusuna verilen önem de aynı derecede artış göstermiştir. Hauck ve Anderson, Chow ve Liu ilaç değiştirilebilirliği ve reçetelenebilirliği üzerine çalışmışlardır.<sup>12,13</sup> Hauck ve Anderson bireysel biyo-eğdeğerlik konuları ile ilgili çalışmalar yapmışlardır.<sup>12</sup> Chow ve Liu ise kitle biyo-eğdeğerlik, konuları ile ilgilenmişlerdir.<sup>14,15</sup>

Ülkemizde ise T.C. Sağlık Bakanlığı (1994), yayınladığı yönetmelik ile Farmasötik müstahzarların biyoyararlanım ve biyo-eğdeğerliğinin değerlendirilmesini düzenlemiştir.<sup>16</sup>

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

### BİYO-EĞDEĞERLİK

Hastaların aynı etken maddeyi içeren ilaçları birbirlerinin yerine kullanabilmeleri için bu ilaçların benzer kimyasal ve tedavi edici nitelikleri göstermeleri gerekmektedir. Bu yüzden, ilk üretilen ilaç ve onun kopyalarının tedavi edici niteliklerinin eşdeğerliliğinin etkin ve güvenilir olup olmadığının belirlenmesinde biyo-eğdeğerlik çalışmalarından yararlanılmaktadır.

Aynı ilacın iki formülü ya da iki ilacın (ilk ilaç ve onun başka firmalarca üretilen kopyalarından biri) emilimlerinin oranı ve yayılımı benzer olduğunda iki ilacın aynı tedavi etkisini yarattığı ya da tedavi derecelerinin eşdeğer olduğu varsayılmaktadır.

İki ilacın eşdeğer oldukları söylenebiliyorsa birbirlerinin yerine kullanılabilirler. İlaç değişiminin istatistiksel açıdan anlamlı olup olmadığının ispatı için ilk ilaç ve kopyanın aynı birey üzerinde denenmesi ve değişimin anlamlı olup olmadığının belirlenmesi gerekmektedir. Aynı zamanda hasta bireyler üzerinde ilacın farklı tedavi edici etkileri yaratabileceği göz önüne alınırsa denemenin homojenliğinin sağlanabilmesi için çalışmanın sağlıklı bireyler üzerinde de yapılması gerekmektedir.

Eşdeğerliği araştırılan iki ilaç birbirinin yerine ve nöbetleşe kullanılabiliriyorsa ilaç değişebilirliği sağlanıyor demektir.

İlaçların birbirinin yerine kullanılabilmesi, ilaca yeni başlayacak hastanın ilk ilacı ya da onun kopyalarından birini reçetesine yazdırabilmesi ve kullanabilmesi (ilacın reçetelenebilirliği) anlamına gelmektedir.

İlaçların nöbetleşe kullanılabilmesi ise ilk ilacı uzun süredir kullanan bir hastanın kanındaki etken madde yoğunluğunda değişim olmadan kopya ilacı kullanabilmesi anlamına gelmektedir.<sup>17</sup>

Bireylerin kendi doğaları (genleri, kiloları, boyları, bazal metabolizma hızları vb.) ve dış etmenler (yeme içme alışkanlıkları, sosyal aktiviteler vb.) sonucu alınan ilaç bireylerde birbirinden çok daha farklı etkiler yaratabilmektedir. Bu bireyler arası varyans ve birey içi varyans biyo-eşdeğerlik değerlendirmelerinde önemli yer tutmaktadır. Bireyler arası varyansı en aza indirebilmek için US FDA'nın önerisine göre çaprazlama deney düzeninin kullanılması gerekmektedir.

Biyoeşdeğerlik çalışmalarında deney düzeni hazırlanırken daha önce yapılan benzer çalışmalardan yararlanılmalıdır. Ölçümlerin plazma, serum ya da idrar üzerinde mi yapılacağı belirlenmelidir. US FDA'ya göre kandan faydalanılarak yapılan deneylerde genelde bireyler arası değişim az olduğundan 24 kişilik bir örneklem yeterli olmaktadır. Ancak idrardan faydalanılarak yapılan deneylerde bireyler arası değişim çok fazla olduğundan örneklem büyük (en az 90) ve maliyet yüksektir.

Bireylerin test ve referans ilacı hangi sırayla içeceklerini gösteren rasgele ilaç alım çizelgesi hazırlanmaktadır. Tüm bireyler birbirlerinden bağımsız olarak ya önce test sonra referans ilacı ya da önce referans sonra test ilacı almaktadırlar.<sup>18</sup>

Ölçümlerde homojenliği sağlamak için çoğu ülke, araştırmaya katılacak bireylerin taşınması gereken nitelikleri, o ülkeye ait biyo-eşdeğerlik çalışmaları ile ilgili yönetmeliklerinde belirtmektedir. Ülkemizde belirlenen ölçütler, bireylerin sağlıklı olmaları, erkek olmaları, 18-45 yaş aralığında olmaları, 21-24 vücut kitle indeksi aralığında olmaları vb. biçimdedir.<sup>16</sup>

Biyoyararlanım, ilaçtan emilim gerçekleşikten sonra kan vb. ölçüm yapılan alanda izlenebilen etken madde oranı ve alanı olarak belirtilmektedir.

Biyoeşdeğerlik, test ve referans ilaç için aynı deney düzeninde birer deneme yapıldığında birbirinin tedavi alternatifi olan bu ilaçların emilim gerçekleşikten sonra ölçüm sıvısında izlenebilen oranları ve alanları arasındaki farkın önemsiz olmasıyla sağlanabilmektedir.

Biyoeşdeğerlik, test ve referans ilacın biyoyararlanımlarının karşılaştırılmasıdır. Biyoeşdeğerlik çalışmaları, bir ölçüt, bu ölçüt için belirlenen güvenilirlik limitleri ve önceden belirlenmiş biyo-eşdeğerlik limitlerinden faydalanılarak gerçekleştirilir.<sup>19</sup>

Biyoeşdeğerlik çalışmalarında denemelerden elde edilen farmakinetik değerlerle ( $C_{maks}$  (en büyük yoğunluk değeri) ve AUC (eğri altında kalan alan)) oluşturulan istatistiksel modellerden yararlanılır.

Birey için ölçümlerde elde edilen değerlerin birbirlerinden bağımsız oldukları ve ortalamalarının test ilaç için  $m_{Tj}$ , referans ilaç için  $m_{Rj}$ , ( $j:1, \dots, n$ ), birey içi varyanslarının (with in subject variation) ise test ilaç için  $\sigma^2_{WT}$ , referans ilaç için ise  $\sigma^2_{WR}$  olduğu varsayılmaktadır.

Biyoeşdeğerliğin sağlanması için kitle parametrelerinin fonksiyonunun ( $\Theta$ ), belirlenen biyo-eşdeğerlik limit değerinden ( $\theta$ ) büyük olmaması

gerekmektedir. Bu yapının sıfır ve alternatif hipotezlerle gösterimi;

$$H_0: \Theta \geq \theta \text{ (Biyoeşdeğerlik yoktur)}$$

$$H_1: \Theta < \theta \text{ (Biyoeşdeğerlik vardır)}$$

biçimindedir. Sıfır ve alternatif hipotezler için önerilen güvenilirlik düzeyi %95'tir ( $\alpha=0.05$ ).

Sıfır hipotezinin reddedilip alternatif hipotezin kabulü biyoeşdeğerliğin sağlanması anlamına gelmektedir. Aksi gerçekleşirse test ve referans ilacın biyoeşdeğer olmadıkları sonucuna ulaşılır.

Kitle parametrelerinin fonksiyonu ( $\Theta$ ) ve biyoeşdeğerlik limit değeri ( $\theta$ ) kullanılan biyoeşdeğerlik yöntemine (ortalama, kitle ve bireysel biyoeşdeğerlik yöntemleri) göre değişmektedir.<sup>20</sup>

### İlaç Araştırmalarında Kullanılan Farmakinetik Parametreler

Biyoeşdeğerlik, iki ilacın ölçüm sıvısı içinde belirlenen madde yoğunluğu-zaman eğrilerinden elde edilen farmakinetik değerler karşılaştırılarak incelenmektedir.

Biyoeşdeğerlik çalışmalarında kullanılacak birçok farmakinetik parametre vardır. Bunlar birincil ve ikincil parametreler olarak iki grupta toplanır. Birincil parametreler karar verme aşamasında kullanılırken ikincil parametreler çalışmanın genel seyri hakkında fikir edinmek için kullanılabilir.

Biyoeşdeğerlik çalışmalarında AUC ve  $C_{maks}$  birincil parametreler olarak değerlendirilmekte ve biyoeşdeğerliğin karar aşamasında bu parametreler göz önüne alınmaktadır. Diğer parametreler ise ikincil parametreler olarak değerlendirilmektedir.<sup>21</sup>

$C_i$ : i. zamandaki emilim oranı ya da i. zamandaki yoğunluk olarak,  $t_{maks}$ : En büyük yoğunluğa ulaşılan zaman olarak,  $C_{maks}$ : En büyük yoğunluk değeri olarak tanımlanmaktadır.<sup>22</sup>

AUC: Ölçüm sıvısı içinde belirlenen madde yoğunluk-zaman eğrisi altında kalan alanı ifade etmektedir. AUC farklı zaman aralıkları göz önüne alınarak aşağıdaki biçimde değerlendirilmektedir:

$AUC_{0-t_k}$ : 0. ölçüm zamanından k. ölçüm zamanına kadar toplanan ölçüm sıvıları içinde belirlenen madde yoğunluk-zaman eğrisi altında kalan alanı ifade etmektedir.

Son ölçüm zamanında toplanan ölçüm sıvısından elde edilen yoğunluk değeri sıfırlansa da cihazların ölçemeyeceği kadar düşük yoğunlukların son ölçüm zamanından sonra da kanda var olduğu varsayılmaktadır. Bu varsayım altında son ölçülen yoğunluk değerinin büyüklüğü, son ölçümden sonuza kadar uzanan zaman diliminde kalan alan değeri üzerinde anlamlı bir etki yaratmaktadır. Bu alan değerinin de hesaplara katılması daha sağlıklı sonuçlar elde edilmesini sağlamaktadır.<sup>23</sup>

$AUC_{0-\infty}$ : 0. ölçüm zamanından sonuza kadar geçen zamanda ölçüm sıvıları içindeki madde yoğunluk-zaman eğrisi altında kalan alanı ifade etmektedir.<sup>24</sup>

Biyoeşdeğerlik çalışmalarında  $AUC_{0-\infty}$ 'nin birincil parametre olarak değerlendirilmesi için katılımcıların en az %80'inde;

$$\frac{AUC_{0-t_k}}{AUC_{0-\infty}} \geq 0.80$$

koşulunun sağlanması gerekmektedir. Aksi takdirde  $AUC_{0-t_k}$  birincil parametre olarak değerlendirilmelidir.<sup>21</sup>

$t_{1/2}$ : İlacın yarı ömrü, CV: Değişim katsayısı (coefficient of variance) olmakta ve  $CV = \frac{\sigma}{\mu} 100$  biçiminde tanımlanmaktadır.<sup>25</sup>

### İSTATİSTİKSEL YÖNTEMLER

Elde edilen farmakinetik verilerin çözümlenmesinde kullanılan istatistiksel yöntemler; ortalama biyoeşdeğerlik yöntemi, kitle biyoeşdeğerlik yöntemi ve bireysel biyoeşdeğerlik yöntemidir.<sup>20</sup>

#### Ortalama Biyoeşdeğerlik Yöntemi

Ortalama biyoeşdeğerlik yöntemi, test ve referans ilaçların kitle ortalamalarının karşılaştırılması üzerine yoğunlaşmaktadır. US FDA (2003) ortalama biyoeşdeğerlik yöntemi için iki seri, iki tekrarlı (2 x 2) çaprazlama deney düzenini önermektedir.<sup>18</sup>

Ortalama biyoeşdeğerlik yöntemi için önerilen kitle parametreleri fonksiyonu,

$$\Theta = \mu_T - \mu_R$$

biçimindedir. Burada,  $\Theta$ : Kitle parametreleri fonksiyonu,  $\mu_T$ : Test ilaç için ortalama,  $\mu_R$ : referans ilaç için ortalama olmaktadır.

Ortalama biyoeşdeğerlik yöntemi için önerilen ölçütün genel gösterimi,

$$(\mu_T - \mu_R) \leq \theta_A \text{ ya da } -\theta_A \leq \mu_T - \mu_R \leq \theta_A$$

biçimindedir. Burada,  $\theta_A$ ; ortalama biyoeşdeğerlik limitidir.

Sıfır ve alternatif hipotezler;

$$H_0: \Theta \geq \theta_A$$

$$H_1: \Theta < \theta_A$$

biçiminde verilmektedir. Ortalama biyoeşdeğerlik limiti  $\theta_A$  için US FDA tarafından önerilen değer,  $\theta_A = 1n(1.25)$  olmaktadır.<sup>20</sup> Sıfır hipotezinin reddedilip alternatif hipotezin kabulü biyoeşdeğerliğin sağlanması anlamına gelmektedir.

Çoğu ülkedeki yönetmeliklerde alternatif ilacın onaylanması için ortalama biyoeşdeğerlik yönteminin sağlanması yeterli görülmektedir. Ancak ortalama biyoeşdeğerlik ölçütleri özellikle ilaçların birbirinin yerine ve birbirinin ardına kullanımının güvenli olup olmayacağı konusunda yetersiz kalabilmektedir.<sup>26,27</sup>

### Kitle Biyoeşdeğerlik Yöntemi

Kitle biyoeşdeğerlik yönteminde test ve referans ilaca ait kitle dağılımlarının benzer olması gerekmektedir. Bu yüzden kitle biyoeşdeğerlik yönteminde, hem kitle ortalamalarının hem de kitle varyanslarının benzerlikleri üzerinde yoğunlaşmaktadır. Başka bir deyişle, kitle biyoeşdeğerlik, ilacın reçetelenebilirliği üzerine yoğunlaşmaktadır.<sup>10,28</sup>

Kitle biyoeşdeğerlik yönteminde 2 çeşit ölçeklendirme vardır. Bunlar referans ölçeklendirme ve sabit ölçeklendirme. Referans ölçeklendirmede referans ilacın varyansı baz alınarak ölçeklendirme yapılır. US FDA'nın önerisi kitle biyoeşdeğerlik yönteminde karışık ölçekli modelin kullanılmasıdır. Karışık ölçekli modelde referans ilacın varyansı, FDA'nın önerdiği toplam varyans sabitinden büyükse referans, küçükse sabit ölçeklendirme kullanılmaktadır.<sup>20</sup>

Kitle biyoeşdeğerlik yöntemi için önerilen karışık ölçekli kitle parametreleri fonksiyonu;

$$\Theta = \frac{(\mu_T - \mu_R)^2 + (\sigma_T^2 - \sigma_R^2)}{\max(\sigma_R^2, \sigma_{T0}^2)}$$

biçiminde verilmektedir. Burada,  $\Theta$ : Kitle parametreleri fonksiyonu,  $\mu_T$ : Test ilaç için ortalama,  $\mu_R$ : Referans ilaç için ortalama,  $\sigma_T^2$ : Test ilaç için varyans,  $\sigma_R^2$ : Referans ilaç için varyans,  $\sigma_{T0}^2$ : Toplam varyans sabiti olmaktadır.

$$\sigma_R^2 > \sigma_{T0}^2$$

ise referans ölçekli yöntem kullanılmakta ve önerilen ölçüt;

$$\Theta = \frac{(\mu_T - \mu_R)^2 + (\sigma_T^2 - \sigma_R^2)}{\sigma_R^2} \leq \theta_P$$

biçiminde olmaktadır.

$$\sigma_R^2 \leq \sigma_{T0}^2$$

ise sabit ölçekli yöntem kullanılmakta ve önerilen ölçüt;

$$\Theta = \frac{(\mu_T - \mu_R)^2 + (\sigma_T^2 - \sigma_R^2)}{\sigma_{T0}^2} \leq \theta_P$$

biçiminde olmaktadır. Burada,  $\theta_P$ : Kitle biyoeşdeğerlik limitidir.<sup>29</sup> Kitle biyoeşdeğerlik limiti olarak 1.74 alınması uygun görülmektedir.<sup>20</sup>

Sıfır ve alternatif hipotezler;

$$H_0: \Theta \geq \theta_P$$

$$H_1: \Theta < \theta_P$$

biçiminde verilmektedir. Sıfır hipotezinin reddedilip alternatif hipotezin kabulü biyoeşdeğerliğin sağlanması anlamına gelmektedir.

US FDA (2001) kitle biyoeşdeğerlik çalışmaları için 2 seri, 4 tekrarlı (2 x 4) deney düzenini önermektedir. Bu deney düzeninde örneklem, test ve referans ilacı alış sıraları rasgele belirlenmiş n tane katılımcıdan oluşmakta ve her birey deney boyunca aynı ilacı 2 kere almaktadır.<sup>19</sup>

### Bireysel Biyoeşdeğerlik Yöntemi

Bireysel biyoeşdeğerlik yönteminde test ve referans ilacın aynı bireyde birbirine ne kadar yakın sonuç-

lar verdiği üzerine yoğunlaşmıştır. Bireysel biyo-eşdeğerlik yöntemi ile yapılan hesaplamalardan elde edilen sonuçlar yalnızca referans ve test ilacın tekrarlanan denemeler sonucu elde edilen farmakinetik değerlerine ait dağılımların benzerliğini değil aynı zamanda 2 dağılımın da referans ilaç tarafından belirlenen iyileştirebilirlik sınırlarında yer alıp almadığını da göstermektedir. Eğer belirli bir bireyde tekrar eden test ve referans ilaca ait denemeler sonucu elde edilen farmakinetik değişkenlerinin dağılımları birbirlerine yakınsa belirlenen güven düzeyinde bu 2 ilacın bireysel biyo-eşdeğer olduğu söylenebilmektedir. Sonuç olarak bireysel biyo-eşdeğerlikte test ve referans ilaçların ortalama ve varyansların benzerliği kadar birey-formül etkileşiminin homojenliği de önemli olmaktadır.<sup>19</sup>

Bireysel biyo-eşdeğerlik yöntemi ilaçların değişebilirliği üzerine yoğunlaşmaktadır.<sup>10,28</sup>

Bireysel biyo-eşdeğerliğin ispatında kullanılan 3 önemli karakteristik;

$\mu_T - \mu_R$  : Test ve referans ilaçlar için kitle ortalamaları arası fark,

$\sigma_{WT}^2 - \sigma_{WR}^2$ : Test ve referans ilaçlar için birey içi varyanslar arası fark,

$\sigma_D^2$ : Birey formül etkileşimi varyansı olmaktadır.

Genel tanımlamaya göre bireysel biyo-eşdeğerlik ölçütünde, kitle parametreleri fonksiyonun ( $\theta_1$ ), belirlenen bireysel biyo-eşdeğerlik limit değerinden ( $\Theta$ ) büyük olmaması gerekmektedir. Bireysel biyo-eşdeğerlik yönteminde bu ölçüt temel alınmaktadır. Bu ölçütün sıfır ve alternatif hipotezleri;

$$H_0: \Theta \geq \theta_1$$

$$H_1: \Theta < \theta_1$$

biçiminde verilmektedir. Sıfır hipotezinin reddedilip alternatif hipotezin kabulü biyo-eşdeğerliğin sağlanması anlamına gelmektedir.

Kitle biyo-eşdeğerlik yönteminde olduğu gibi US FDA'nın önerisi bireysel biyo-eşdeğerlik yönteminde de karışık ölçekli modelin kullanılmasıdır. Karışık ölçekli modelde referans ilacın varyansı bü-

yükse referans, küçükse sabit ölçeklendirme kullanılmaktadır.

$\sigma_{WR}^2 - \sigma_{W0}^2$  ise referans ölçeklendirme kullanılmakta ve ölçüt;

$$\Theta = \frac{(\mu_T - \mu_R)^2 + \sigma_D^2 + (\sigma_{WT}^2 - \sigma_{WR}^2)}{\sigma_{WR}^2} \leq \theta_1$$

biçiminde olmaktadır. Burada  $\mu_T$ : Test ilaç için ortalama,  $\mu_R$ : Referans ilaç için ortalama,  $\sigma_D^2$ : Birey formül etkileşimi varyansı,  $\sigma_{WT}^2$ : Test ilaç için birey içi varyans,  $\sigma_{WR}^2$ : Referans ilaç için birey içi varyans olmaktadır. US FDA,  $\sigma_{W0}^2 = 0.04$  alınmasını önermektedir.

$\sigma_{WR}^2 \leq \sigma_{W0}^2$  ise sabit ölçeklendirme kullanılmakta ve ölçüt;

$$\Theta = \frac{(\mu_T - \mu_R)^2 + \sigma_D^2 + (\sigma_{WT}^2 - \sigma_{WR}^2)}{\sigma_{W0}^2} \leq \theta_1$$

biçiminde olmaktadır. Burada,  $\theta_1$ : Bireysel biyo-eşdeğerlik limitidir.<sup>29</sup> Bireysel biyo-eşdeğerlik limiti olarak 2.4948 değeri elde edilmektedir.<sup>20</sup>

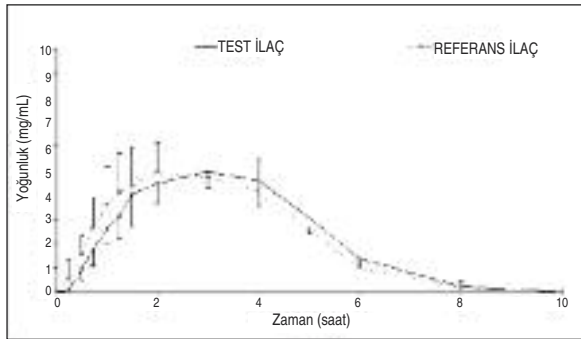
US FDA (2001) bireysel biyo-eşdeğerlik çalışmaları için 2 seri, 4 tekrarlı (2 x 4) çaprazlama deney düzenini önermektedir. Bu deney düzeninde örneklem, test ve referans ilacı alışı sıraları rasgele belirlenmiş n tane katılımcıdan oluşmakta ve her birey deney boyunca aynı ilacı 2 kere almaktadır.<sup>19</sup>

## BULGULAR

Bu çalışmada, test ilacın referans ilaçla biyo-eşdeğerliliği araştırılmıştır. Deney düzeninin, test ve referans ilacın sağlıklı katılımcılarda, tek doz, çaprazlama, 2 seri, 4 tekrarlı (2 x 4) uygulanması ile biyo-eşdeğerlik araştırması gerçekleştirilmiştir.

İlaç biyo-eşdeğerlik çalışmalarında gönüllü katılımcıların seçimi ve katılımcı profilinin belirlenmesi oldukça önemlidir.<sup>30</sup>

Çalışmaya katılacak 24 katılımcı, bilgilendirilmiş gönüllü oluru alınmış kişilerden oluşan listeden rasgele seçilmiş ve ön hazırlık çerçevesinde bu katılımcıların alınma ölçütlerini sağlayıp sağlamadıkları incelenmiş ve bu ölçütleri sağladıkları belirlenmiştir. Ayrıca bireylerin yakın zamanda aldıkları ilaçlar varsa, bu ilaçların arınma süreleri-



ŞEKİL 1: Test ve referans ilaçların ortalama grafiği.

nin dolmuş olmasına dikkat edilmiştir. İnsan ögesinin içinde bulunduğu bu çalışma, Helsinki deklarasyonu prensiplerine uygun olarak yapılmıştır.

Çalışmaya alınan 24 katılımcının 1., 2., 3. ve 4. tekrarda test ya da referans ilacı mı alacağı, Visual Basic bilgisayar programı ile oluşturulan rasgele ilaç alım çizelgesi ile belirlenmiştir.

Benzer koşullar altında bireylere test ve referans ilaçlar verilmiş ve her bir katılımcıdan, her 4 tekrarda da belirtilen zamanlarda kan alımı gerçekleştirilmiştir. Toplanan kanlar gerekli işlemlerden geçirildikten sonra  $-70^{\circ}\text{C}$ 'deki derin dondurucuya yerleştirilmiş ve laboratuvar aşamasına geçilmiştir.

Laboratuvar aşamasında geliştirilen ve doğruluğu kanıtlanmış bir yöntemle ölçüm sıvı içindeki madde yoğunluk değerleri belirlenmiş ve istatistiksel çözümleme yapılmıştır.

İstatistiksel çözümleme yapılırken "WinNonlin Professional (V4.1)" biyoistatistik paket programı ve SPSS 9.0 istatistik paket programı kullanılmıştır.

Test ve referans ilaçlar için farklı zamanlardaki ölçümlerden elde edilen verilerin ortalama grafiği Şekil 1'de verilmiştir.

TABLE 1: Ortalama biyoeşdeğerlik yöntemi sonuçları.

	$\ln C_{\text{maks}}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	$\ln \text{AUC}_{0-\infty}$ (hr. $\mu\text{g/mL}$ )		$\ln C_{\text{maks}}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	$\ln \text{AUC}_{0-\infty}$ (hr. $\mu\text{g/mL}$ )
$\text{LSM}_R$	1.86	3.01	%90 Alt Limiti	88.90	95.51
$\text{LSM}_R$ için Std. Hata	0.04	0.04	%90 Üst Limiti	105.68	112.82
$\text{LSM}_T$	1.83	3.05	%95 Alt Limiti	87.41	93.96
$\text{LSM}_T$ için Std. Hata	0.04	0.04	%95 Üst Limiti	107.48	114.68
$\text{LSM}_R - \text{LSM}_T$	-0.03	0.04	Güç	1.00	1.00
$\text{LSM}_R - \text{LSM}_T$ için Std. Hata	0.05	0.05			
$\text{LSM}_T / \text{LSM}_R$ (%)	0.9693	1.0380			

TABLE 2: Kitle biyoeşdeğerlik yöntemi sonuçları.

Farmakinetik Değişkenler	İstatistik İfadeler	Değerler	Üst Güvenilirlik Limiti
$\ln C_{\text{maks}}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	Fark Değeri	-0.0312	
$\ln C_{\text{maks}}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	Oran(%Ref)	96.929	
$\ln C_{\text{maks}}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	$\sigma_R$	0.2367	
$\ln C_{\text{maks}}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	$\sigma_{WR}$	0.1685	
$\ln C_{\text{maks}}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	Referans Ölçekli Ölçüt	-0.133	-0.0677
$\ln C_{\text{maks}}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	Sabit Ölçekli Ölçüt	-0.0803	-0.0407
$\ln C_{\text{maks}}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	Karışık Ölçekli Ölçüt	-0.133	-0.0677
$\ln \text{AUC}_{0-\infty}$ (hr. $\mu\text{g/mL}$ )	Fark Değeri	0.0407	
$\ln \text{AUC}_{0-\infty}$ (hr. $\mu\text{g/mL}$ )	Oran(%Ref)	104.1568	
$\ln \text{AUC}_{0-\infty}$ (hr. $\mu\text{g/mL}$ )	$\sigma_R$	0.2306	
$\ln \text{AUC}_{0-\infty}$ (hr. $\mu\text{g/mL}$ )	$\sigma_{WR}$	0.1639	
$\ln \text{AUC}_{0-\infty}$ (hr. $\mu\text{g/mL}$ )	Referans Ölçekli Ölçüt	-0.132	-0.066
$\ln \text{AUC}_{0-\infty}$ (hr. $\mu\text{g/mL}$ )	Sabit Ölçekli Ölçüt	-0.0856	-0.0459
$\ln \text{AUC}_{0-\infty}$ (hr. $\mu\text{g/mL}$ )	Karışık Ölçekli Ölçüt	-0.132	-0.066

Yapılan incelemede test ve referans ilaçlarda yalnızca 2 bireyde  $AUC_{(Ref-Test)/Ref}$  oranının %20 değerinin üstüne çıktığı görülmüştür. Yani 22 kişide  $AUC_{(Ref-Test)/Ref}$  oranı %20 değerinin altında yer almaktadır. Bu durumda,  $AUC_{0-\infty}$  parametresi biyo-eşdeğerliğin karar aşamasında birincil parametre olarak değerlendirilecektir.

Biyo-eşdeğerliğin karar aşamasında kullanılacak birincil parametrelerden  $AUC_{0-\infty}$ 'nin ve  $C_{maks}$ 'ın değişim katsayıları %40'ın altında bulunduğu için tercih edilen 24 bireylik örneklem genişliğinin bu 2 parametre için yeterli olduğu söylenebilmektedir.

WinNonLin Professional V4.1 biyoistatistik paket programı ortalama biyo-eşdeğerlik yönteminde en küçük kareler ortalamasını (Least Square Mean-LSM) ve bunun standart hatasını kullanmaktadır. Ortalama biyo-eşdeğerlik yöntemi sonuçları Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1 incelendiğinde test ve referans ilaca ait LSM değerlerinin birbirlerine çok yakın oldukları görülmektedir. Test ve referans ilaca ait LSM değerlerinin farkının ve farkın standart hatasının küçük ve test ilacın LSM değerlerinin referans ilacın LSM değerlerine oranının bire yakın olduğu görülmektedir.

Karar parametreleri  $C_{maks}$  ve  $AUC_{0-\infty}$ 'un %90 alt ve üst limitlerinin (US FDA'nın ortalama biyo-

eşdeğerlik için önerdiği güvenilirlik limiti) %80-%120 limitlerinin içinde yer aldığı görülmektedir. Bu durumda, ortalama biyo-eşdeğerlik sağlanmış olmaktadır. Ayrıca güç değerlerinin tümü bire çok yakın olduğu için program tarafından bire yuvarlanmıştır.

Kitle biyo-eşdeğerlik yöntemi için US FDA'nın önerdiği güvenilirlik üst limiti sıfırdır. Kitle biyo-eşdeğerlik yöntemi sonuçları Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2 incelendiğinde  $C_{maks}$  ve  $AUC_{0-\infty}$  parametreleri için test ve referans ilacın fark değerlerinin küçük, oran değerlerinin ise sınırları içinde olduğu (test ilacın referans ilaca yakın olduğu anlamına gelmektedir) ve varyans değerlerinin küçük olduğu görülmektedir. Ayrıca  $C_{maks}$  ve  $AUC_{0-\infty}$  parametreleri karar parametreleridir ve karar aşamasında karışık ölçekli kitle biyo-eşdeğerlik ölçütü kullanılmıştır. Bu üst limit değeri sıfırdan küçük olduğu için  $C_{maks}$  ve  $AUC_{0-\infty}$  parametreleri için kitle biyo-eşdeğerlik sağlanmış olmaktadır.

Bireysel biyo-eşdeğerlik yöntemi için de US FDA'nın önerdiği güvenilirlik üst limiti sıfırdır. Bireysel biyo-eşdeğerlik yöntemi sonuçları Tablo 3'te verilmiştir.

Tablo 3 incelendiğinde  $C_{maks}$  ve  $AUC_{0-\infty}$  parametreleri için test ve referans ilacın fark değerlerinin küçük, oran değerlerinin sınırları içinde ve

**TABLO 3:** Bireysel biyo-eşdeğerlik yöntemi sonuçları.

Farmakinetik Değişkenler	İstatistik İfadeler	Değerler	Üst Güvenilirlik Limiti
In $C_{maks}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	Fark Değeri	-0.0312	
In $C_{maks}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	Oran(%Ref)	96.929	
In $C_{maks}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	$\sigma_R$	0.2367	
In $C_{maks}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	$\sigma_{WR}$	0.1685	
In $C_{maks}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	Referans Ölçekli Ölçüt	-0.0468	0.0084
In $C_{maks}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	Sabit Ölçekli Ölçüt	-0.0758	-0.0348
In $C_{maks}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	Karışık Ölçekli Ölçüt	-0.0758	-0.0348
In $AUC_{0-\infty}$ (hr. $\mu\text{g/mL}$ )	Fark Değeri	0.0407	
In $AUC_{0-\infty}$ (hr. $\mu\text{g/mL}$ )	Oran(%Ref)	104.1568	
In $AUC_{0-\infty}$ (hr. $\mu\text{g/mL}$ )	$\sigma_R$	0.2306	
In $AUC_{0-\infty}$ (hr. $\mu\text{g/mL}$ )	$\sigma_{WR}$	0.1639	
In $AUC_{0-\infty}$ (hr. $\mu\text{g/mL}$ )	Referans Ölçekli Ölçüt	-0.059	-0.0073
In $AUC_{0-\infty}$ (hr. $\mu\text{g/mL}$ )	Sabit Ölçekli Ölçüt	-0.0918	-0.0561
In $AUC_{0-\infty}$ (hr. $\mu\text{g/mL}$ )	Karışık Ölçekli Ölçüt	-0.0918	-0.0561



varyans değerlerinin küçük olduğu görülmektedir. Ayrıca  $C_{maks}$  ve  $AUC_{0-\infty}$  parametreleri karar parametreleridir ve karar aşamasında karışık ölçekli bireysel biyodeşdeğerlik ölçütü kullanılmıştır. Bu üst limit değeri sıfırdan küçük olduğu için  $C_{maks}$  ve  $AUC_{0-\infty}$  parametreleri için bireysel biyodeşdeğerlik sağlanmış olmaktadır.

## SONUÇ

Bu çalışmada biyodeşdeğerliğe ilişkin temel kavramlar, biyodeşdeğerliğin genel yapısı, deney düzeni, istatistiksel çözümlene ve bu çözümlenmede kullanılan ölçütün genel yapısı ve kullanılan farmakinetik parametreler verilmiştir. Ortalama, kitle ve bireysel biyodeşdeğerlik yöntemleri, bu yöntemlerde kullanılabilir deney düzenleri, biyodeşdeğerlik ölçütü, biyodeşdeğerlik limitlerinin belirlenmesi ve değerlendirilmesi üzerinde durulmuştur.

Uygulama bölümünde ise sağlıklı bireylerden oluşan 24 kişilik örneklem üzerinde ortalama, kitle ve bireysel biyodeşdeğerlik yöntemleri uygulanmıştır. Test ve referans ilaç ortalamaları arası fark ve test ve referans ilaç ortalamaları oranı küçüktür. Bireyler arası, bireyler içi ve toplam varyans değerleri de küçüktür. İki ilacın da dağılımı net tanımlanabilmekte, kitle ortalamaları farkı, birey içi varyans farkı ve birey formül etkileşimi var-

yansı önemsiz ve uygulanan testlerin güç değerleri bire çok yakın elde edilmiştir. Uygulamada kullanılan ortalama, kitle ve bireysel biyodeşdeğerlik yöntemlerinin 3'ü içinde biyodeşdeğerlik sağlanmıştır.

Bu uygulama için aslında ortalama biyodeşdeğerlik yönteminin yeterli olduğu görülmüştür.

Sonuç olarak,

- Birey formül etkileşimi varyansının ve birey içi varyans farkının belirlenen önem düzeyinde anlamsız olması durumunda yapılacak yeni çalışmalar için ortalama biyodeşdeğerlik yönteminin kullanılabilirliği,
- Birey formül etkileşimi varyansının belirlenen önem düzeyinde anlamsız ancak birey içi varyans farkının belirlenen önem düzeyinde anlamlı olması durumunda yapılacak yeni çalışmalar için kitle biyodeşdeğerlik yönteminin kullanılabilirliği ve bu seçimin ilacın reçetelebilirliği üzerine yoğunlaşacağı,
- Birey formül etkileşimi varyansının ve birey içi varyans farkının belirlenen önem düzeyinde anlamlı olması durumunda ise yapılacak yeni çalışmalar için bireysel biyodeşdeğerlik yönteminin kullanılabilirliği ve bu seçimin ilacın değişebilirliğinin üzerinde yoğunlaşacağı yorumları yapılabilmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Metzler CM, Huang DC. Statistical methods for bioavailability and bioequivalence. Clin Res Pract Drug Reg Affairs 1983;1:109-32.
2. Metzler CM. Bioavailability--a problem in equivalence. Biometrics 1974;30:309-17.
3. Anderson S, Hauck WW. A new procedure for testing equivalence in comparative bioavailability and other clinical trials. Commun. Stat Theory & Methods 1983;12:2663-92.
4. Schuurmann DJ. On hypothesis testing to determine if the mean of a normal distribution is continued in a known interval. Biometrics 1981;37:617.
5. Westlake WJ. Use of confidence intervals in analysis of comparative bioavailability trials. J Pharm Sci 1972;61:1340-1.
6. Westlake WJ. Symmetrical confidence intervals for bioequivalence trials. Biometrics 1976;32:741-4.
7. Westlake WJ. Statistical aspects of comparative bioavailability trials. Biometrics 1979;35:273-80.
8. Rodda BE, Davis RL. Determining the probability of an important difference in bioavailability. Clin Pharmacol Ther 1980;28:247-52.
9. Mandallaz D, Mau J. Comparison of different methods for decision-making in bioequivalence assessment. Biometrics 1981;37:213-22.
10. Anderson S, Hauck WW. Consideration of individual bioequivalence. J Pharmacokinetic Biopharm 1990;18:259-73.
11. US Food and Drug Administration (FDA). Draft Guidance on In-Vivo Bioequivalence Studies Based on Population and Individual Bioequivalence Approaches. Division of Bioequivalence, Office of Generic Drugs, Center for Drug Evaluation and Research, U.S. Food and Drug Administration, Rockville, Maryland, 1997.
12. Hauck WW, Anderson S. Types of bioequivalence and related statistical considerations. Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol 1992;30:181-7.
13. Chow SC, Liu JP. Current issues in bioequivalence trials. Drug Inform J 1995a;29:795-804.
14. Chow SC, Liu JP. On assessment of bioequivalence under a higher-order crossover design. J Biopharm Stat 1992;2:239-56.
15. Chow SC, Liu JP. Assay development. Statistical Design and Analysis in Pharmaceutical Science. 1<sup>st</sup> ed. New York: Marcel Dekker; 1995. p. 25-70.
16. T.C. Sağlık Bakanlığı İlaç ve Eczacılık Genel Müdürlüğü, Farmasötik Müstahzarların Biyoyararlanım ve Biyodeşdeğerliğinin Değerlendirilmesi Hakkında Yönetmelik, Resmi Gazetenin 21942 sayısında yayınlanmıştır. Ankara; 1997.

17. Balding D, Cressie NAC, Fisher NL, Iohnstone IM, Kadane B, Molenberghs G, et al. Basic statistical concepts. In: Chow SC, Liu JP, eds. *Design and Analysis of Clinical Trials: Concept and Methodologies*. 1<sup>st</sup> ed. New York: Wiley-Interscience; 1998. p.47-89.
18. US Food and Drug Administration (FDA). *Guidance for Industry on Bioavailability and Bioequivalence Studies for Orally Administered Drug Products-General Consideration*, Center for Drug evaluation and Research, Food and Drug Administration, Rockville, Maryland, 2003.
19. US Food and Drug Administration (FDA). *Guidance for Industry on Statistical Approaches to Establishing Bioequivalence*, Center for Drug evaluation and Research, Food and Drug Administration, Rockville, Maryland, 2001.
20. US Food and Drug Administration (FDA). *Guidance for Industry on Average, Population and Individual Approaches to Establishing Bioequivalence*, Center for Drug evaluation and Research, Food and Drug Administration, Rockville, Maryland, 1999.
21. US Food and Drug Administration (FDA). *Bioavailability and Bioequivalence Studies for Orally Administered Drug Products-General Considerations*. Center for Drug Evaluation and Research, Rockville, Maryland, 2000.
22. Gibaldi M, Perrier D. *Statistical considerations in comparative bioavailability studies*. Pharmacokinetics. 2<sup>nd</sup> ed. New York: Marcel Dekker; 1982. p.185-87.
23. Martinez MN, Jackson AJ. Suitability of various noninfinity area under the plasma concentration-time curve (AUC) estimates for use in bioequivalence determinations: relationship to AUC from zero to time infinity (AUC<sub>0</sub>-INF). *Pharm Res* 1991;8:512-7.
24. Rowland M, Tozer TN. *Assessment of area. Clinical Pharmacokinetics: Concepts and Applications* 2<sup>nd</sup> ed. Philadelphia: Leas and Febiger; 1989. p. 459-63.
25. Health Canada, *Guidance For Industry Conduct And Analysis Of Bioavailability And Bioequivalence Studies-Part A: Oral Dosage Formulations Used For Systemic Effects*, Minister of Health, Ontario, Canada, 1992.
26. Chen ML, Patnaik R, Hauck WW, Schuirmann DJ, Hyslop T, Williams R. An individual bioequivalence criterion: regulatory considerations. *Stat Med* 2000;19:2821-42.
27. Chow SC, Liu JP. *Design of bioavailability studies-statistical methods for average bioavailability-population and individual bioequivalence-statistical procedures for assessment of population and individual bioequivalence*. In: Chow SC, Liu JP, Muth JE, eds. *Design and Analysis of Bioavailability and Bioequivalence Studies*. 2<sup>nd</sup> ed. New York: Marcel Dekker; 2000. p. 31-56; 79-124; 401-43.
28. Sheiner LB. *Bioequivalence revisited*. *Stat Med* 1992;11:1777-88.
29. Schall R, Williams RL. *Towards a practical strategy for assessing individual bioequivalence*. Food and Drug Administration Individual Bioequivalence Working Group. *J Pharmacokinetic Biopharm* 1996;24:133-49.
30. Mazıcıoğlu MM, Göğüşten B, Erenmemişoğlu A. [Participants profile in drug bio equivalency trials]. *Turkiye Klinikleri J Med Sci*. 2004;24: 328-31.