

## Controversias en la Estimación de Diferencias Significativas en Áreas Bajo la Curva en Cronofarmacocinética

Pilar SÁNCHEZ O., A. María THIELEMANN y Hernán CHÁVEZ G\*.

*Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile.  
Casilla 233, Santiago 1, Chile*

---

**RESUMEN.** Una de las características de los estudios de cronofarmacocinética es que los datos obtenidos de voluntarios sean considerados pareados. El objetivo es comparar el comportamiento de los parámetros durante el día y la noche en los mismos sujetos. En este trabajo se muestran diferentes tratamientos estadísticos aplicados a una tabla de datos en que se compara el área bajo la curva entre la administración diurna y nocturna. Inicialmente se analizó la normalidad de la variable en el día y la noche. La prueba de Shapiro-Francia que está desarrollada para tamaños muestrales entre 5 y 5000 observaciones indicó que la variable AUC sigue la distribución normal. Lo mismo ocurrió al aplicar la prueba de Shapiro - Wilks diseñada para tamaños muestrales entre 7 y 2000 observaciones. Con estos antecedentes de normalidad se aplicó el test-Student para datos pareados encontrándose un valor de  $p = 0,0476$ , lo que implica diferencias significativas. Como el valor está cercano a 0,05 se procedió a aplicar otras pruebas (no-paramétricas) donde las exigencias del tamaño de muestra son menores. Los valores obtenidos fueron  $p = 0,1250$  para la prueba de los signos y de  $p = 0,063$  para la prueba de los rangos con signos para datos pareados de Wilcoxon. Dada la situación producida al comprobar las diferencias se procedió a analizar el problema con el criterio de bioequivalencia, para lo cual se aplicó la prueba "Two one-sided test" indicada por la FDA para discernir bioequivalencia entre dos productos. En nuestro caso las situaciones a estudiar son distintas (día y noche). Esta prueba la aplicamos usando un programa computacional creado por nosotros llamado "Dosx1" (En Visual Basic). Los resultados indican que se cumple sólo una de las dos pruebas implicadas, pues  $t_{\text{teor}} = 2,015$ ,  $t_1 = 0,922$  y  $t_2 = 5,665$  con lo cual no se puede afirmar equivalencia. Se concluye que esta prueba es útil para tomar decisiones en situaciones límites como la presentada debido a su sensibilidad.

**SUMMARY.** "Controverses on the Estimation of Significant Differences in Areas Under the Curve in Chronopharmacokinetics". The characteristics of chronopharmacokinetic studies cause volunteer data to be treated as paired. The idea is to compare daytime and night behavior in the same subjects. This study shows different statistical treatments ap-

---

**PALABRAS CLAVE:** Análisis estadístico, Cronofarmacocinética, Farmacocinética, Farmacométrica, Two one sided test.

**KEY WORDS:** Statistical analysis, Chronopharmacokinetics, Pharmacokinetics, Pharmacometrics, Two one-sided test.

\* Autor a quien dirigir la correspondencia.

plied to a data table comparing the area under the curve of daytime and night administration. Daytime and night variable normality was initially analyzed. The Shapiro-Francia (France) test, developed for sampling sizes of 5 to 5000 observations indicated that the AUC variable follows a normal distribution. The same happened on application of the Shapiro-Wilks test designed for sampling sizes of 7 to 2000 observations. With these antecedents the Student test for paired data was applied and a value of  $p = 0.0476$  was obtained, which implies significant differences, Since the value is near 0.05, other (nonparametric) tests with lower sample size requirements were applied. The values obtained were  $p = 0.1250$  for the sign test and  $p = 0.063$  for the Wilcoxon test for range and sign for paired data. In view of the problem produced by the differences, the problem was analyzed under a bioequivalence criterium, and the Two one-sided test, suggested by FDA to discriminate bioequivalence between two products was applied in our study to the different situations (daytime and night). The test was applied using a program of our design, Dosx1 (in Visual Basic). Results indicate that only one of the two tests is met, since  $t_{\text{theor}} = 2.015$ ,  $t_1 = 0.922$ , and  $t_2 = 5.665$ , which prevents us from stating bioequivalence. It is concluded that the sensitivity of this test makes it useful in making decisions in borderline situations such as the one described.

## INTRODUCCION

Una de las formas habituales de hacer estudios en cronofarmacocinética es comparar los parámetros farmacocinéticos obtenidos durante el día y la noche para un grupo de voluntarios estandarizados. Esto conlleva a buscar y utilizar el método estadístico adecuado que permita establecer si existen o no diferencias significativas entre ambos períodos.

La elección del método, además de ceñirse al diseño experimental empleado, debe considerar otros aspectos como el tamaño de la muestra y sobre todo una distribución normal del parámetro en estudio.

Al aplicar los métodos estadísticos las conclusiones no siempre son inmediatas y muchas veces se debe utilizar más de un recurso con el fin de asegurar la calidad del tratamiento de los datos experimentales.

En los estudios de cronofarmacocinética es conveniente considerar todos los parámetros farmacocinéticos en el día y en la noche, como por ejemplo constantes  $k_{10}$  y  $\beta$ . Además del área bajo la curva pueden ser interesantes los cálculos de clearance, volumen de distribución aparente, tiempo medio de residencia y otros. Para emitir una conclusión en cuanto a cronofarmacocinética se debería hacer un análisis del conjunto de parámetros.

En el presente estudio se discute la forma de manejar los datos utilizando la variada gama de herramientas estadísticas con el fin de optimizar la comparación de áreas bajo la curva en el día y en la noche.

A los métodos estadísticos paramétricos y no paramétricos agregamos los resultados de otro método, el "two one sided test" que en el caso de un diseño cruzado permite decidir si dos productos son equivalentes o no. Este método tuvo un largo proceso de estudio hasta que la FDA lo aprobó fijando límites muy precisos para las condiciones de aceptación o rechazo. Se recomienda aplicar esta prueba al nivel de significación de  $\alpha = 0,05$  para comparar AUC y  $C_{\text{max}}$  entre dos formulaciones <sup>1-7</sup>. Dos formulaciones en las que estos parámetros difieren por un 20% o menos se consideran bioequivalentes; por tanto las formulaciones serán consideradas bioequivalentes si, para los parámetros farmacocinéticos, sus medias o media-

nas no difieren en más del 20% de la formulación de referencia. Aunque el rango del 20% es algo arbitrario, está basado en parte por el hecho de que en la mayoría de las drogas, un 20% de cambio en las dosis podría no ser lo suficiente como para producir una falla terapéutica o un aumento del riesgo de toxicidad <sup>2</sup>.

En este trabajo se presentan los resultados obtenidos luego de aplicar diversos cálculos estadísticos a los valores de área bajo la curva para un grupo de 7 sujetos a quienes se les administró teofilina i.v. en el día y en la noche.

**METODOLOGÍA**

Al conjunto de datos del área bajo la curva (AUC) que se muestra en la Tabla 1 y que corresponde a un preparado de teofilina que se administró durante el día y la noche <sup>8</sup> se le aplicaron diferentes pruebas estadísticas correspondientes a las pruebas paramétricas y no-paramétricas y la prueba "two one sided test" (prueba propuesta por la FDA a partir del año de 1992) <sup>1</sup>.

| AUC     |                          |                            |         |                            |                          |
|---------|--------------------------|----------------------------|---------|----------------------------|--------------------------|
| Grupo 1 |                          |                            | Grupo 2 |                            |                          |
| sujeto  | Período 1<br>(día)<br>y1 | Período 2<br>(noche)<br>y2 | sujeto  | Período 1<br>(noche)<br>y1 | Período 2<br>(día)<br>y2 |
| 1       | 46,94                    | 73,69                      | 1       | 76,88                      | 65,58                    |
| 2       | 71,93                    | 91,29                      | 2       | 76,05                      | 74,72                    |
| 3       | 44,82                    | 60,27                      | 3       | 45,04                      | 43,27                    |
| 4       | 121,48                   | 117,85                     |         |                            |                          |

**Tabla 1.** Observaciones ordenadas según diseño cruzado

Se utilizaron los diseños experimentales adecuados al tipo de prueba realizada (diseño cruzado no balanceado, en el caso de la aplicación de la prueba "two one-sided test").

Se utilizaron dos programas computacionales para los cálculos estadísticos: DOS x1 (construido y programado en Visual Basic®) <sup>9</sup> y Stata® (versión 4.0 intercooled) <sup>10</sup>.

**RESULTADOS**

La variable analizada en este estudio es el área bajo la curva AUC. Un primer paso es establecer si se cumplen o no los supuestos necesarios para la aplicación del test t de Student para comparar medias en estudios pareados. En caso que tales supuestos no se cumplan es posible considerar métodos alternativos llamados métodos no-paramétricos.

**Estudio de la normalidad de las variables día y noche**

El estudio de la normalidad se hace a través de cuatro tests: Shapiro-Francia, Kurtosis o grado de apuntamiento, Shapiro-Wilks y el "Grado de Simetría" <sup>10-14</sup>.

Las diferencias existentes entre los test Shapiro-Wilks, Shapiro-Francia y los test de kurtosis y grado de apuntamiento han sido fuente de amplio debate. Se puede recurrir al boletín técnico del stata intercooled para mayor información, pero se recomienda usar Shapiro-Francia siempre que sea posible, esto es, para datos no agrupados. Si se rechaza la normalidad, se usa el test de kurtosis para determinar la fuente del problema.

#### *Prueba de Shapiro-Francia* <sup>10-14</sup>

Este test está desarrollado para tamaños muestrales entre 5 y 5000 observaciones; para este caso el tamaño muestral corresponde a 7. Al aplicar el test Shapiro-Francia la variable medida durante el día y noche resultó ser normal (esto es la diferencia entre el día y la noche). El resultado del test indica que la variable es normal con un valor de  $p = 0,83424$ .

#### *Prueba de Shapiro-Wilks* <sup>10-14</sup>

Este test está diseñado para tamaños muestrales entre 7 y 2000 observaciones. El resultado indica que la diferencia está distribuida en forma normal, con un valor de  $p = 0,7529$ .

#### *Prueba de kurtosis (grado de apuntamiento) y grado de Simetría* <sup>10</sup>

El test de kurtosis (grado de apuntamiento) y grado de simetría no pudieron ser aplicados ya que exige un mínimo de 8 observaciones para poder hacer la evaluación.

#### ***Validación de la igualdad de varianzas entre ambas variables*** <sup>10</sup>

Para evaluar la igualdad de varianzas se debe aplicar el test de Bartlett; en este caso al tratarse de datos pareados no es necesaria su evaluación.

#### ***Aplicación de la prueba t de Student para los datos pareados*** <sup>10</sup>

Esta prueba nos indica que existen diferencias significativas entre la administración durante el día y la noche, para el área bajo la curva. Pero el valor de  $p$  está muy cercano del valor crítico (valor de  $p = 0,0476$ ), por lo que sería recomendable aplicar otras pruebas, con la idea de encontrar una diferencia más marcada.

#### ***Pruebas no-paramétricos aplicadas a las observaciones*** <sup>11,12,15</sup>

Cuando no puede suponerse normalidad o cuando los datos disponibles son categorías en lugar de medidas sobre una escala de intervalos o de razones, debe buscarse una prueba alternativa. Aún cuando la prueba t-Student es algo insensible a las violaciones de la suposición de normalidad, es preferible aplicar pruebas alternativas.

#### *Prueba de los signos* <sup>11,12</sup>

Se basa en la mediana y se centra en los signos de las diferencias entre los valores pareados. La única suposición de la prueba es que la distribución de la variable de interés es continua. Tiene la desventaja de eliminar mucha información en la magnitud de las diferencias; cuando hay empates pueden asignarse en igual

número para las categorías más y menos o sencillamente descartarse junto con la información que contiene. El resultado de la prueba nos indicó que no habían diferencias significativas (valor de  $p = 0,1250$ ). Hay que tener cuidado en una prueba de dos colas, pues si se dispone de un número muy pequeño de datos se podría provocar el rechazo de una hipótesis nula en forma equivocada; esta distorsión es imposible de detectar con menos de seis observaciones.

**Prueba de la mediana** <sup>11,12</sup>

Esta prueba se aplica a muestras independientes, que se han extraído de poblaciones con medianas iguales. Las suposiciones de la prueba están dadas por: a) las muestras se seleccionan independiente y al azar de sus poblaciones respectivas, b) las poblaciones tienen la misma distribución, difiriendo sólo en su localización y c) la variable de interés debe ser continua. En este caso las muestras no son independientes, sino muestras pareadas, por lo que esta prueba no pudo ser aplicada.

Prueba de rangos con signos para datos pareados de Wilcoxon <sup>11</sup>. Este test prueba la igualdad de distribuciones para datos pareados de observaciones. Esta prueba nos mostró que no habían diferencias significativas ( $p = 0,0630$ ).

**Prueba de Mann-Whitney** <sup>11,12</sup>

Esta prueba se usa en datos no pareados y por lo tanto no se puede aplicar en este caso.

|                        | Métodos paramétricos | Métodos no paramétricos | valor p |
|------------------------|----------------------|-------------------------|---------|
| t de Student           | hay diferencias      |                         | 0,0476  |
| prueba de los signos   |                      | no hay diferencias      | 0,1250  |
| prueba de la mediana   |                      | no aplicable            | -       |
| Wilcoxon               |                      | no hay diferencias      | 0,0630  |
| prueba de Mann-Whitney |                      | no aplicable            | -       |

**Tabla 2.** Resumen de las pruebas paramétricas y no-paramétricas tradicionales

Al analizar la Tabla-2 podemos concluir que a través de la prueba t de Student no hay evidencia suficiente para rechazar o aceptar la hipótesis de que existen diferencias entre los tratamientos administrados, ya que el valor de p está cercano al valor crítico de  $p = 0,05$  (valor de  $p = 0,0476$ ). Si se aplican otras pruebas complementarias no-paramétricas para confirmar si existen o no diferencias entre los tratamientos, se observa que con la prueba de los signos no hay diferencias al igual que con la prueba de los rangos con signos de Wilcoxon. Nótese que la discrepancia entre las pruebas paramétricas y no-paramétricas nos impide tomar una decisión respecto a la diferencia entre los tratamientos.

**Prueba "Two one-sided test" para un diseño no-balanceado** <sup>6,7,16-20</sup>

Esta prueba nos permite determinar la condición de bioequivalencia entre

una formulación problema y otra de referencia. El producto de referencia podría ser, por ejemplo, un producto innovador y el producto test otra marca registrada del genérico manufacturada por un laboratorio diferente o bien dos formas de dosificación para el mismo producto, fabricadas ambas por el mismo laboratorio. Actualmente es uno de los procedimientos aceptados por la FDA, para probar bioequivalencia entre dos formulaciones a partir de un diseño cruzado.

Esta prueba consiste en descomponer el intervalo de las hipótesis  $H_0$  y  $H_1$  en dos grupos de hipótesis de una cola.

$$H_{01} : \mu_t - \mu_r \leq \theta_1$$

$$H_{02} : \mu_t - \mu_r \leq \theta_2$$

$$H_{11} : \mu_t - \mu_r > \theta_1$$

$$H_{12} : \mu_t - \mu_r < \theta_2$$

$\mu_t$  y  $\mu_r$  corresponden a las medias de los tratamientos de los productos test y de referencia respectivamente.

La hipótesis nula  $H_0$  establece que  $\mu_t$  y  $\mu_r$  no son equivalentes y asimismo la hipótesis alternativa ( $H_1$ ) establece la condición de bioequivalencia: a) si rechazamos  $H_0$ ,  $H_1$  es verdadera y por lo tanto  $\mu_t$  y  $\mu_r$  son equivalentes; b) si no rechazamos  $H_0$ , no decimos que  $H_0$  sea verdadera, sino que se dice que no hay evidencia suficiente para concluir que  $H_1$  sea verdadera.

Resumiendo: esta prueba consiste en el rechazo del intervalo de la hipótesis nula y así concluir la equivalencia de  $\mu_t$  y  $\mu_r$ , si y sólo si  $H_{01}$  y  $H_{02}$  son rechazadas al nivel nominal de significancia  $\alpha$ . Para concluir que  $\mu_t$  y  $\mu_r$  son equivalentes entonces:

$$t_{\text{calc1}} = \frac{(\mu_t - \mu_r) - \theta_1}{s\sqrt{2/n}} \geq t_{\text{teor}}$$

$$t_{\text{calc2}} = \frac{\theta_1 - (\mu_t - \mu_r)}{s\sqrt{2/n}} \geq t_{\text{teor}}$$

donde  $s$  = raíz cuadrada del error cuadrático medio del análisis de varianza para un diseño cruzado,  $t_{1-\alpha}(v)$  = punto que separa la probabilidad  $\alpha$  en la cola superior de la distribución  $t$  de student con  $v$  grados de libertad,  $v$  = número de grados de libertad asociados con el cuadrado medio del error  $\theta_1 = -\theta_2 = -0.2 * \mu_r$  y  $n$  = tamaño de la muestra.

Esta prueba supone que: a) las observaciones provienen de una distribución normal, b) la varianza intrasujeto del test y referencia son las mismas (aunque no es una suposición crítica), c) el estudio de los productos de referencia y test provienen de un diseño cruzado balanceado (recordar que por balanceado entendemos que hay un mismo número de sujetos por cada tratamiento; si el estudio no fuese balanceado las conclusiones que se obtienen siguen siendo válidas pero se producen algunas dificultades de orden técnico que hacen más complejo el análisis) y d) se asume que  $\theta_1 = -\theta_2$ , lo que indica que el intervalo de equivalencia es simétrico en torno al cero.

### *Caso/de estudios cruzados no balanceados*

En el caso de un diseño cruzado no balanceado, es decir cuando no existe el mismo número de sujetos en cada tratamiento o bien hay observaciones faltantes, la prueba two one-sided test utiliza dos estadísticas:

$$t_1 = \frac{Est - \theta_1}{SE} \quad t_2 = \frac{\theta_2 - Est}{SE} \quad Est = \frac{\bar{x}_{t1} + \bar{x}_{t2}}{2} - \frac{\bar{x}_{r1} + \bar{x}_{r2}}{2}$$

donde  $n_1$  = número de sujetos que reciben la formulación test en el 1er. período y la formulación referencia en el período 2,  $n_2$  = número de sujetos que reciben la formulación referencia en el 1er. período y la formulación test en el período 2,  $\bar{x}_{t1}$  = media de  $n_1$  observaciones en la formulación test, período 1,  $\bar{x}_{t2}$  = media de  $n_2$  observaciones en la formulación test, período 2,  $\bar{x}_{r1}$  = media de  $n_2$  observaciones en la formulación de referencia (período 1),  $\bar{x}_{r2}$  = media de  $n_1$  observaciones en la formulación de referencia (período 2),  $SE$  = error estándar del estimador =  $s \cdot \sqrt{0.5 \cdot (1/n_1) + (1/n_2)}$  y  $s$  = raíz cuadrada del cuadrado medio del error ( $\sqrt{CME}$ ) dentro del ANOVA para diseño cruzado con  $v$  grados de libertad.

En el caso de estudios con más de dos tratamientos(formulaciones) y/o períodos, las fórmulas para  $Est$  y  $SE$  dependerán del patrón particular de desbalance, lo que puede complicar de gran manera el análisis y cálculos. Generalmente se necesitará de un programa computacional para poder obtenerlos.

Una vez obtenido el análisis de varianza para este diseño cruzado no-balanceado se procede a aplicar la prueba *two one-sided test*, donde se introduce una variación de acuerdo a un caso para datos no balanceados. El valor de  $t$  para 5 grados de libertad (asociados a la varianza residual dentro de los sujetos, en el análisis de varianza para diseño cruzado no balanceado) y con una confiabilidad de 0,95% es de  $t_{teor} = 2,015$ . Al establecer la comparación sólo se pudo cumplir con una de las pruebas, luego podemos decir que no hay evidencia suficiente para concluir equivalencia. La implementación de este prueba se hizo en Visual Basic, a través de un programa sencillo de usar que hemos llamado "DOSx1". Los valores de  $t$  calculados fueron: 5,665 y 0,923 que no permitieron establecer equivalencia entre los valores de  $AUC$  para el día y la noche, cuyos valores medios son 66,96 y 77,295 (día y noche).

**CONCLUSIONES**

Los resultados indican una situación de controversia, puesto que el número de datos permite justificar la utilización de métodos no paramétricos, encontrándose con ellos que no hay diferencias significativas en las áreas bajo la curva entre el día y la noche. Por otro lado la  $t$  de student para datos pareados indica que existirían diferencias, pero con un valor muy cercano al límite. Los cálculos con ANOVA no serían apropiados en este caso por ser datos pareados; en el caso de forzarse un cálculo para datos independientes daría claramente que no hay diferencias entre las medias ( $p = 0,46$ ).

En una situación como la planteada el método "two one sided test" aparece como un complemento interesante, puesto que a pesar de haber sido diseñado para estudios de bioequivalencia ayuda en nuestro caso a decidir si ambas situaciones son equivalentes o no. Este método es bastante estricto y los límites estadísticos recién fueron aprobados por la FDA en 1992. Dadas las características de

la hipótesis nula y alternativa, respectivamente, esta es una forma muy exigente para definir equivalencia puesto que el valor teórico del estadístico  $t$  debería ser menor que los dos valores calculados de  $t$ . En nuestro caso el valor teórico 2,015 (al 95%) es menor solamente que uno de los  $t$  calculados por lo tanto "no existe evidencia suficiente para concluir equivalencia".

Es importante destacar que con estos resultados estadísticos no se deben tomar decisiones clínicas, debido a que los valores encontrados están casi en el límite. En estudios de cronofarmacocinética se observa una variación entre sujetos que hace aconsejable utilizar grupos con más voluntarios. Además las decisiones clínicas deberían basarse en el análisis de todos los parámetros farmacocinéticos que puedan presentar diferencias circadianas. Situaciones estadísticas como la planteada deben ser consideradas con todo el rigor que nos permiten los métodos estadísticos actualmente en boga sin perder la perspectiva de que las aplicaciones clínicas deberán deducirse sólo en aquellos casos en que los resultados presenten una verdad científica irrefutable. En este sentido la aplicación del "two one sided test" complementa el espectro de métodos actuales con su doble exigencia. La aplicación de este método resulta muy sencilla y amigable con el programa computacional "DOSx1".

*Nota:* La solicitudes libres de costo del programa "DOSx1" se pueden hacer al e-mail: hechavez@abello.dic.uchile.cl

#### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. FDA (1992) "Guidance: Statistical procedures for bioequivalence studies using a standard two-treatment crossover design". July 1992
2. Marvin, M. (1991) *Amer. Pharm. (NS)* **31**: 47-51
3. Westlake, W.J. (1979) "Design and Statistical Evaluation of Bioequivalence Studies in Man" en *Principles and Perspectives in Drug Bioavailability* (Chapter 7, Karger, Basel), págs. 192-210
4. Westlake, W.J. (1988) "Bioavailability and Bioequivalence of Pharmaceutical Formulations" en *Biopharmaceutical Statistics for Drug Development*. (Edited by K. Peace, New York), Marcel Dekker, Inc., Chapter 7) págs. 329-52
5. Schuirmann, D.J. (1990) *Drug Information Journal* **14**: 315-23
6. Schuirmann, D.J. (1987) *J. Pharmacokin. Biopharm.* **15**: 657-80
7. Toshimitsu, O., S. Tojuki & G. Shigeru (1995) *Biol Pharm. Bull.* **18**: 192-4
8. Thielemann A.M., H. Chávez, E. Pinilla, M.N. Gai & A. Arancibia (1993) *Acta Farm. Bonaerense* **12**: 137-43
9. Sánchez P., A.M. Thielemann y H. Chávez "Método two one-sided test": una aplicación computacional para la teofilina" 3er Congreso de la Federación Farmacéutica Sudamericana (FEFAS)
10. Stata Corporation (1993) "Stata Reference Manual" (Stata Press), Texas, Release 3.1, vol 2. 6th. ed.
11. Steel, R. & J. Torrie (1992) "Bioestadística: Principios y Fundamentos" Editorial Mac Graw Hill, 2ª edición, México, págs. 520-39



12. Wayne, W.D. (1991) "*Bioestadística: Base para el Análisis de las Ciencias de la Salud*" Editorial Limusa SA., México, 3ª Edición, págs. 503, 516-27
13. Shapiro, S.S. & M.B. Wilk (1965) *Biometrika* **52**: 591- 611
14. Shapiro, S.S & R.S. Francia (1972) *J. Amer.Statistical Assoc.* **67**: 215-6
15. Hollander, M. & D. Wolfe (1972) "*Nonparametrics Statistical Methods*" (Ed. John Wiley and Sons) New York
16. Phillips, K.F. (1990) *J. Pharmacokin. Biopharm.* **18**: 137-44
17. Cid, E. (1992) "*Control de Calidad Biofarmacéutico de Medicamentos: Cinética de disolución, Farmacocinética y Biodisponibilidad*" Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Biofarmacia y Farmacocinética. Santiago, Chile, págs. 322-42
18. Steinijs, W., D. Hauschket & J. Jonkman (1992) *Clinical Pharmacokin.* **22**: 247-53
19. Steinijs W. & D. Hauschke (1990) *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.* **28**: 105-10
20. Schulz, M.V.& V.W. Steinijs (1991) *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.* **29**:293-8