

Biohasonlóság és bioekvivalencia

A biológiailag hasonló gyógyszerek (biohasonló, biosimilar) nem tekinthetők generikus gyógyszereknek. A forgalomba hozatali engedély megszerzéséhez kémiai-gyógyszerészeti, nem klinikai és klinikai vizsgálatokat kell végezni a biológiailag hasonló és a referenciaként szolgáló biológiai gyógyszer között. A biológiailag hasonló és a referenciaként szolgáló biológiai gyógyszer immunológiai profilja automatikusan nem egyezik meg. Mivel az esetleges eltérések előre nem kiszámíthatóak, részletes kockázatértékelési tervet (risk management plan) kell készíteni a forgalomba hozatali engedély kérésekor.

DR. BUZÁS ZSUZSANNA

Országos Gyógyszerészeti Intézet, Fejlett Terápiás és Biológiai Készítmény Értékelő Osztály

MIT NEVEZÜNK BIOLÓGIAI GYÓGYSZERNEK?

A biológiai gyógyszer túlnyomóan fehérje/polipeptid alapú termék, amelynek hatóanyaga vagy élő szervezetből származik, vagy élő szervezet állítja azt elő. Az inzulint például képes előállítani olyan élő szervezet (baktérium vagy élesztőgomba), amelybe egy, az inzulin-termelésre képes gént ültettek.

MIT NEVEZÜNK BIOHASONLÓ GYÓGYSZERNEK?

A biohasonló gyógyszer (biosimilar) olyan gyógyszerkészítmény, amely egy már enge-

délyezett biológiai gyógyszerhez („biológiai referenciagyógyszer”), ezen belül annak hatóanyagához alapvetően hasonló. A biohasonló gyógyszer Európában „biosimilars”, Kanadában „subsequent entry biologics”, az Egyesült Államokban „follow-on-biologics” (FOB) néven ismert. A biohasonló és a biológiai referenciagyógyszert általában ugyanolyan gyógyszerformában és adagban alkalmazzák ugyanazon betegségek kezelésére. Mivel a biohasonló és a biológiai referenciagyógyszer csak hasonló, de teljes azonosságuk a molekula összetettsége miatt nem igazolható, ezért a biohasonlósági alapon történő gyógyszer-engedélyezés szigorú tudományos megalapozottságot és nagy körültekintést igényel.

1. TÁBLÁZAT. AZ EMEA ÁLTAL ENGEDÉLYEZETT BIOHASONLÓ GYÓGYSZEREK AZ EU-BAN

Biohasonló gyógyszer-készítmény	Gyártó cég	INN (Hatóanyag név)	Biológiai referenciagyógyszer készítmény	Törzskönyvezés ideje
Omnitrope	Sandoz	somatropin	Genotropin	2006. április 12.
Valtropin	Biopartners	somatropin	Humatrope	2006. április 24.
Binocrit	Sandoz	epoetin alfa	Erypo/Eporex	2007. augusztus 28.
Epoetin alfa hexal	Hexal	epoetin alfa	Erypo/Eporex	2007. augusztus 28.
Abseamed	Medice	epoetin alfa	Erypo/Eporex	2007. augusztus 28.
Silapo	Stada	epoetin zeta	Erypo/Eporex	2007. december 18.
Retacrit®	Hospira	epoetin zeta	Erypo/Eporex	2007. december 18.
Ratiograstim	Ratiopharm	filgrastim	Neupogen	2007. szeptember 15.
Biograstim	CT Arzneimittel	filgrastim	Neupogen	2007. szeptember 15.
Tevagrastim	Teva	filgrastim	Neupogen	2007. szeptember 15.
Filgrastim ratiopharm	Ratiopharm	filgrastim	Neupogen	2007. szeptember 15.
Zarzio	Sandoz	filgrastim	Neupogen	2009. február 6.
Filgrastim Hexal	Hexal	filgrastim	Neupogen	2009. február 6.

Kresse G. B. 2009 alapján

DR. BUZÁS ZSUZSANNA



TÖRTÉNETI ÁTTEKINTÉS

Az innovatív (originális) biológiai gyógyszerek is, hasonlóan a klasszikus gyógyszerkészítményekhez, kizárólagosságot élveznek a gyógyszer törvény által biztosított adatvédelmi időszak alatt. Csak ezen időszak letelése után kérhetnek a cégek forgalomba hozatali engedélyt biohasonló gyógyszerre.

Az első generációs biológiai gyógyszerek szabadalmi védettségének lejártával, 2004 elejétől kezdődött meg a biohasonló gyógyszerek forgalomba hozatalának engedélyeztetése.

A felügyeleti hatóságok, nevezetesen az Európai Gyógyszerügynökség (EMA – European Medicines Agency) és az Egyesült Államok gyógyszerfelügyeleti hatósága (FDA – Food and Drug Administration) útmutatókat készítenek az engedélyezéshez szükséges követelményekről. 2005-ben, Európában jelent meg az első EMA-útmutató; Svájcban, Kanadában és Japánban 2008-ban jelent meg az első útmutató tervezet, míg az Egyesült Államokban mindmáig nem készült útmutató.

Az I. táblázat az EMA által engedélyezett biohasonló gyógyszerek listáját tartalmazza, amelyek három hatóanyagot érintenek: somatropin (HGH, humán növekedési hormon), epoetin (EPO, eritropoietin hormon) és filgrastim (G-CSF, Granulocyte-Colony Stimulating Factor). (I. táblázat.)

HOGYAN ÉRTÉKELIK A BIOHASONLÓ GYÓGYSZEREKET AZ EURÓPAI UNIÓBAN?

Míg generikus készítményeknél, amelyek kis molekulatömegű, pontosan definiálható kémiai szerkezetű hatóanyagokat tartalmazó gyógyszerek, a kémiai-gyógyszerészeti hasonlóság és az egészséges önkéntesen végzett biológiai egyenértékűség (bioekvivalencia)-vizsgálat alapvetően elegendő információt szolgáltat annak biztosítására, hogy a generikus készítmény ugyanolyan biztonságos és hatásos, mint a referenciagyógyszer, addig a hasonló biológiai gyógyszerek komplex volta ezt nem teszi lehetővé. Ahogy a generikumok, úgy a biohasonló készítmények engedélyezés során elvégzendő vizsgálatait is szigorú irányelvek és rendeletek szabályozzák.

A biológiai gyógyszerek nagy molekulatömege, komplex harmadlagos és negyedleges szerkezete, valamint a gyártási folyamatok összetettsége miatt a biológiai referenciagyógyszer és a biohasonló gyógyszer hatóanyaga kismértékben eltérő lehet. Ez a biológiai tulajdonságokban elvileg – adott esetben – olyan váratlan eltérésekhez vezethet, amelyek nem feltétlenül derülnek ki a forgalomba hozatali engedély megszerzéséhez szükséges nem klinikai és klinikai vizsgálatokban. Továbbá, a jelenlegi analitikai technikák sem teszik teljes mértékben lehetővé, hogy ezeket a komplex fehérjéket tökéletesen jellemezni lehessen.

Az Európai Unióban a biotechnológiai alapú gyógyszerek engedélyezése kizárólag az EMEA keretein belül, centrális törzskönyvezés során történhet, ami minden tagállamra érvényes forgalomba hozatali engedélyt eredményez.

Az EMEA a készítményekkel szemben támasztott gyógyszerminőségi, nem klinikai és klinikai követelményekről általános és termékspecifikus szakmai irányelveket/útmutatókat készít.

Ezek az útmutatók a biohasonló gyógyszereket hasonlítják, de nem azonosnak tekintik az innovátor referenciaként szolgáló biológiai gyógyszerével, és a biológiai gyógyszer tulajdonságait nagymértékben befolyásoló gyártási folyamat fontosságát emelik ki. Lehetnek olyan kis különbségek a biohasonló és a referenciaként szolgáló biológiai gyógyszerek között, amelyeket nehéz analizálni és kimutatni, de a gyógyszer biztonságosságára és hatékonyságára hatással lehetnek.

HOGYAN BIZTOSÍTHATÓ A BIOHASONLÓ MOLEKULÁK BIZTONSÁGOSSÁGA?

Mint említettük, a különböző gyártási technológiákkal készített, elvileg azonos hatóanyagot tartalmazó biotechnológiai alapú gyógyszerek végtérmeikeiben lehetnek eltérések. Ezért nagy kihívás olyan komplex összehasonlító vizsgálati módszereket találni, amelyek alkalmasak a megfelelő értékelés elvégzésére, és

mennyiségileg is egyértelműen definiálhatók a tesztek azokat a hasonlóságokat, illetve különbségeket, amelyek egy biológiai gyógyszer az originátor készítményhez hasonlóvá, tehát biohasonlóvá tesznek.

Az EMEA fizikai-kémiai, biológiai, nem klinikai, klinikai hasonlóságot igazoló követelményeket támaszt, valamint posztmarketing mellékhatás-figyelési terv készítését írja elő a biohasonló gyógyszerek forgalomba hozatali engedélyének megszerzéséhez.

FIZIKAI-KÉMIAI, BIOLÓGIAI HASONLÓSÁG IGAZOLÁSA

Összehasonlító vizsgálatokkal kell igazolni, hogy a biohasonló és a referenciaként szolgáló biológiai gyógyszer szerkezeti és funkcionális szempontból egymáshoz kellően közel áll, és a biohasonló készítmény gyártásának ellenőrzése a hasonlóságot minden gyártási tételre biztosítja. A biológiai/biotechnológiai alapú termékek komplexitásából és a készítmény gyártási folyamatából adódóan ezekre a készítményekre nem lehet a generikus készítményekre alkalmazott bioekvivalencia-vizsgálatokat alkalmazni.

A biohasonló gyógyszerek előállítóinak szigorú minőségi, hatásossági és biztonságossági kritériumoknak kell megfelelniük. Már a minőségi paramétereket sem lehet egyszerű mérőszámokkal definiálni. A fehérjék különböző módosításokon mennek keresztül az előállítás

folyamán, amelyek különböző termékvariánsokat eredményezhetnek a különböző eredetű szennyezések jelenléte mellett.

A 2. táblázat a fehérjék különböző módosításait mutatja be, amelyet az előállítás folyamán szereznek. Ezen módosított paraméterek összességével lehet jellemezni egy biológiai alapú gyógyszer minőségét. A biohasonlósági vizsgálatok során a paraméterek összehasonlító vizsgálatait kell elvégezni az originátor biomolekulához viszonyítva. (2. táblázat.)

RATHMORE A. S. 2009 ALAPJÁN

Rövidítések: ADCC: ellenanyagfüggő sejtmediált citotoxicitás, AUC: analitikai ultracentrifugálás, CDC: komplementfüggő citotoxicitás, CE: kapilláris elektroforézis, CEX: kationcserélő, cIEF: kapilláris izoelektromos fókuszálás, ESI: elektron spray ionizáció, IE: ioncserélő, IEF: izoelektromos fókuszálás, GE: gélelektroforézis, MS: tömegspektroszkópia, SE: méretkizárás, q-PCR kvantitatív PCR.

A biohasonlósági vizsgálatokban a minőségi hasonlóságon kívül, nem klinikai és klinikai hasonlóságot is igazolni kell.

NEM KLINIKAI HASONLÓSÁG IGAZOLÁSA

Meggyőzően kell igazolni a biohasonló és referenciagyógyszer közti hasonlóságot és különbséget:

2. TÁBLÁZAT. BIOLÓGIAI TERMÉK KOMPLEXITÁSA, MINŐSÉGET BEFOLYÁSOLÓ PARAMÉTEREK

Mutatók	Minőségi jellemzők (általánosan használt módszerek)
Azonosság	Primer szekvencia (peptid térképezés és fehérjeszekvencia-analízis), immunogenitás (immunoassay), más azonossági jellemzők (IE-HPLC, GE).
Biológiai aktivitás	Biológiai aktivitás (sejt alapú bioassay, gén expressziós bioassay, ADCC, CDC)
Általános jellemzők	Megjelenés/szín (vizuális), átlátszóság (turbidimetria), pH (potenciometria), ozmolalitás (fagyáspontcsökkenés), konformáció (közele/távoli UV dikroizmus spektroszkópia, Fourier transzformációs infravörös spektroszkópia, X ray crystallography, differenciális scanning kalorimetria), effektor funkció (receptorkötés), koncentráció (UV abszorpció).
Kívánatos gazdasejt-módosítások	Glikoziláció (monoszacharid összetétel-analízis, oligoszacharid profil felvétel, CE, LC-MS, MS/MS, ESI, MALDI-TOF). foszforiláció (peptidterképezés MS-sel).
Nemkívánatos gazdasejt-módosítások	Csonkolás (SE HPLC, GE, AUC, peptidterképezés MS-sel RP-HPLC), glikáció nem enzimátikus glikoziláció (peptidterképezés MS-sel, HPLC), metiláció (CEX HPLC), izomerizáció (CEX HPLC).
Kívánatos gyártási módosítások	Pegiláció (HPLC, CE)
Nemkívánatos gyártási módosítások	Aggregáció (SE-HPLC, GE, AUC), oxidáció (peptidterképezés MS-sel), deamidáció (cIEF, peptidterképezés MS-sel, CEX HPLC), C terminális lizin (cIEF, peptid terképezés MS-sel, CEX HPLC), rossz konformáció (RP-HPLC).
Gazdasejt eredetű szennyezések	Gazdasejtfehérjék (ELISA), gazdasejt-DNS (hibridizáció, DNS-kötő fehérje assay Threshold assay, q-PCR), endotoxin (Limulus amoebocyte lysate assay).
Gyártási folyamat során keletkező szennyezések	Habzásgátló (kompendium), kioldódás, kimosódás, bioburden (membránszűrés), protein A (proteinA- ELISA).

■ *in vitro* vizsgálatok: a biológiai aktivitás vizsgálatoknál használt receptorkötési vizsgálatok vagy sejt alapú assay-k,

■ *in vivo* állatkísérletek: a rekombináns fehérjének megfelelő, humán endogén génre transzgenikus állatok hasznos kvalitatív modellek különböző termékek relatív immunogenitásának vizsgálatára, de ezekből az eredményekből sem extrapolálható a helyes humán immunológiai válasz,

■ farmakológiai és toxikológiai vizsgálatok.

KLINIKAI HASONLÓSÁG VIZSGÁLATA

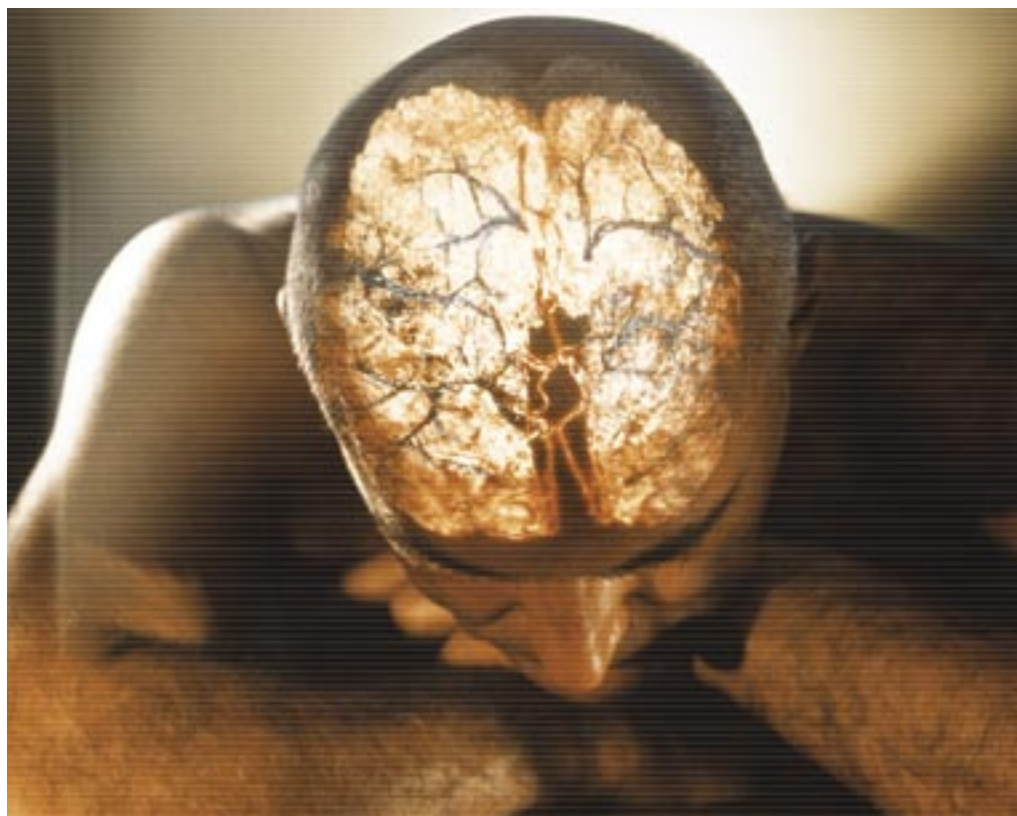
A fehérjék poszttranszlációs módosításai, úgymint glikoziláció, karboxiláció, hidroxiláció, szulfonálás, amidálás a fehérjék tulajdonságait nagymértékben érintik és a terápiás felhasználást is befolyásolják.

Ezért az immunogenitási vizsgálatoknak nagyon nagy fontosságuk van a biztonságosság szempontjából. Habár manapság nagy előrelépés történt a fehérjék immunogenitásának előrejelzésében *in silico*, *in vitro*, *in vivo* módszerek segítségével, a humán klinikai vizsgálatok maradtak a legmegbízhatóbbak az immunogenitási kérdések megválaszolására.

A klinikai vizsgálatoknak – különös tekintettel a lehetséges immunológiai hatásokra – azt kell igazolniuk, hogy a biztonságosság és a hatékonyság tekintetében nincs lényeges különbség a biohasonló és a biológiai referenciagyógyszer között. Amennyiben a biológiai referenciagyógyszert több különböző betegség kezelésére alkalmazzák, a hasonló biológiai készítmény hatékonyságát és biztonságosságát is több, de nem feltétlenül minden javallatként kérelmezett betegség vonatkozásában célzott tesztekkel vagy klinikai vizsgálatokkal kell igazolni.

POSTMARKETING MEL-LÉKHATÁS-FIYELÉSI TERV (RMP, RISK MANAGEMENT PLAN) KÉSZÍTÉSE

Valamennyi gyógyszer, így a biohasonló gyógyszerek biztonságosságát is a forgalomba hozatali engedély megadása után folyamatosan ellenőrzik/követik. Minden vállalattól (hatósági szóhasználattal: „kérelmezőtől”) megkövetelik az általa újonnan forgalmazott gyógyszerkészítmény biztonságosságát – beleértve a biológiai készítményekre adott immunválaszt – folyamatosan ellenőrző farmakovigilancia-rendszer felállítását. A felügyelő hatóságok, így az OGYI is ennek a folyamatos ellenőrző rendszernek a működését ellenőrzik. Amennyiben léteznek a referenciagyógyszer alkalmazásánál megfontolandó, meghatározott elővigyázatossági intézkedések, a biohasonló gyógyszerre is ugyanezen biztonsági intézkedéseket kell alkalmazni. A felügyelő hatóságok a gyártóhely(ek) időszakos ellenőrzését



ugyanúgy végzik, mint minden más gyógyszer esetében.

KÜLÖNBÖZŐ GYÁRTÁSI FOLYAMAT, KÜLÖNBÖZŐ TERMÉKEK: MI A KÖVETKEZMÉNY?

A termék immunogenitása is különböző lesz. Nézzünk meg olyan példákat, amelyeket a gyártási folyamat különböző elemeinek változása idézett elő, ez által a termék minősége, immunológiai profija és terápiás felhasználása is megváltozott.

1. A SEJTVONAL VAGY EXPRESSZIÓS RENDSZER HELYES KIVÁLASZTÁSA:

A biotechnológiai alapú gyógyszert kódoló gén szekvenciát hordozó plazmid vagy vírus

vektort megfelelő gazdasejtbe juttatják. Az expressziós rendszer a fermentorban tenyésztett sejtekben állítja elő a vektor által meghatározott fehérjét.

A 3. táblázat a biotechnológiai alapú gyógyszer-gyártásban leggyakrabban használt expressziós rendszereket mutatja be.

Az expressziós rendszer megváltozása a gazdasejtből eredő szennyezést is megváltoztatja, ami hatással lehet az immunogenitás megváltozására, vagy mint adjuváns vagy mint közvetlen immunogenitást kiváltó ágens.

Az expressziós rendszer változása más glikozilációs profilt eredményez a termékekben. Az *Escherichia coli* ban expresszált fehérjék nem glikoziláltak, míg az emlős CHO-sejtben expresszált formák hordozzák a megfelelő glikozilációs profilt.

3. TÁBLÁZAT. EXPRESSZIÓS RENDSZEREK

Expressziós rendszer	Termék	Gyártó
Escherichia coli	Infergen (rh IFN-alfa) Humalog (rh insulin) Neupogen (GM-CSF)	Intermune Lilly Amgen
Élesztő	Novorapid (rh insulin) Regranex (r platelet derived GF) Leukine (GM-CSF)	Novo Nordisk Johnson & Johnson Berlex
CHO (Chinese hamster ovary) sejt	Herceptin (trastuzumab) Cerezyme (r imiglucerase) Avastin (bevacizumab) Rituxan (rituximab)	Genentech Genzyme Genentech Biogen
Egér-hibridóma	Bexxar (¹³¹ I jelölt tositumomab) Orthoclone OKT3 (muromomab) Simulect (basiliximab)	Corixa Johnson & Johnson Novartis

Thiel 2004 alapján
Rövidítések: rh IFN: rekombináns humán interferon, GM-CSF: granulocita makrofág-kolónia stimuláló faktor, GF: növekedési faktor, r: rekombináns.

A glikozilált fehérje megváltozott harmadlagos szerkezete más immunológiai választ indukál.

2. FEHÉRJE-GLIKOZILÁLÁS HATÁSA:

■ Az eritropoetin (EPO) három N-glikozilált és egy O-glikozilált helyet tartalmaz. Az EPO biosimilar más glikozilációs profil mutató. Ha az innovátor EPO alfa termékhez viszonyítjuk pl. a Hexal termékét (1. táblázat), akkor kiderül, hogy az nagyobb mennyiségű mannózt tartalmaz. Ezzel szemben a Hospira által gyártott EPO zeta, Retacrit kevesebb O-glikánt, N-glikol neuraminsavat és O-acyl neuraminsavat tartalmaz.

Vizsgálatok igazolták, hogy az N-glikozilált helyek eltávolítása az in vitro aktivitást nem befolyásolja, ellenben az in vivo aktivitást csökkenti.

■ Mint fentebb említésre került, az *Escherichia coli*-ban expresszált fehérjék nem glikoziláltak, míg az emlős CHO-sejtben expresszált formák hordozzák a megfelelő glikozilációs profilt. A glikoziláció hiánya lehetett pl. az oka az *Escherichia coli*-ban előállított interferon beta-1b megnövekedett immunogenitásának az emlős sejtekben előállított interferon beta-1a immunogenitásával szemben. A glikoziláció hiánya azért növelhette meg az immunogenitást, mert ez által a fehérje felületén hidrofób oldalláncok váltak szabaddá és a termék rosszabbul oldódott.

■ Hasonlóan az előbbi esethez a rekombináns humán granulocita makrofág (rhGM)-CSF O-glikozilálása megvéd bizonyos helyeket a natív fehérjevázon. A megfelelő glikozilációs profil hiányában a szabad felszínek ellenanyagképződést generáltak a rhGM-CSF-terápiában kezelt betegek 25%-ában. Ebben az esetben a rosszul választott gazdasejt rendszer

tehető felelőssé a kialakult immunogenitási probléma keletkezésében.

3. FORMULÁLÁS SORÁN EGY KOMPONENS VÁLTOZTATÁSA:

A biológiai gyógyszerkészítmények alkalmazásakor tapasztalható leggyakoribb jelenség a semlegesítő (neutralizáló) ellenanyagok megjelenése a keringési rendszerben, ami gyengíti a gyógyszerkészítmény hatását. Jó példa erre a krónikus veseelégtelenséghez (CKD – Chronic Kidney Disease) társuló anémia kezelésére használt epoetin-alfa (EPO) által indukált, csak a vörösvérsejteket érintő aplázia (PRCA – Pure Red Cell Aplasia) mint súlyos, eddig ritkán látott mellékhatás fellépése. Egy kicsinek tűnő gyártásbeli eltérés (a formulálás során humán szérumbalbumin (HSA) helyett poliszorbát-80 használata) eredményezte azokat az eseteket, amelyekben EPO-t semlegesítő ellenanyagok megjelenése mellett PRCA is fellépett mellékhatásként. Ezek a betegek életük végéig vörösvérsejt-transzfúzióra szorulnak.

4. EGYÉB PARAMÉTEREK HATÁSA:

■ Monoklonális ellenanyag előállításánál a B-sejt hibridóma vagy CHO-sejt transzfekciója különböző arányú C terminális lizint tartalmazó ellenanyagot eredményezett.

■ Különböző gyártótól származó médiumok összetevői a termék minőségét befolyásolták.

■ Inzulin és növekedési hormon termékekben előforduló kis mennyiségű szennyezés neutralizáló ellenanyag-termelést váltott ki.

■ Factor VIII termék előállításánál egy újabb pasztörizálási lépés beiktatása megnövelte az immunogenitást.

BIOHASONLÓ GYÓGYSZEREK ENGEDÉLYEZÉSE

A biohasonló gyógyszer forgalomba hozatali engedélyét az után adják meg, miután a felületes hatóság az EMEA elvégezte a gyógyszer hatásosságának, biztonságosságának és minőségének tudományos értékelését. Más szavakkal, a biohasonló gyógyszerek törzskönyvi értékelése az Európai Unióban centrális úton (tehát nem nemzeti vagy nemzetközi eljárásokban) történik.

A forgalomba hozatali engedély megszerzése nem jelenti automatikusan a biohasonló és a biológiai referenciagyógyszer kölcsönös kicserélhetőségét (helyettesíthetőségét); erre csak szakorvos adhat engedélyt.

Franciaország, Spanyolország, Olaszország, Németország és Hollandia törvényben tiltja az automatikus kicserélhetőséget. Hazánkban a biohasonló gyógyszerek nem szerepelnek az OGYI helyettesíthetőségi listáján.

Az alkalmazási előírásban (SPC, Summary of Product Characteristics) szereplő, hivatalosan jóváhagyott javallatokban – az alkalmazási előírás utasításainak betartásával – biohasonló gyógyszerrel is elkezdhető a kezelés, de fő szabályként a biohasonló gyógyszer a kezelés folyamán nem cserélhető fel sem a referenciaként szolgáló biológiai gyógyszerrel, sem más biohasonló gyógyszerrel a vizsgálatot végző szakorvos engedélye nélkül.

IRODALMI HIVATKOZÁSOK

1. Schellekens H.: *Biosimilar therapeutics-what do we need to consider?* NDT Plus. 2009;2(Suppl. 1):27–36.
2. Zuñiga L., Calvo B.: *Regulatory aspects of biosimilars in Europe.* Trends Biotechnol. 2009;27(7):385–387.
3. McKoy J. M., Stonecash R. E., Cournoyer D., Rossert J., Nissenon A. R., Raisch D. W., Casadevall N., Bennett C. L.: *Epoetin-associated pure red cell aplasia: past, present, and future considerations.* Transfusion. 2008;48(8):1754–1762.
4. Kresse G. B.: *Biosimilars – Science, status and strategic Perspective.* Eur. J. Pharm BioPharm. 2009;72(3):479–486.
5. Reingold S. C., Steiner J. P., Polman C. H., Cohen J. A., Freedman M. S., Kappos L., Thompson A. J., Wolinsky J. S.: *The challenge of follow-on biologics for treatment of multiple sclerosis.* Neurology. 2009;73(7):552–559.
6. Thiel K. A.: *Biomanufacturing, from bust to boom... to bubble?* Nat Biotechnol. 2004;22(11):1365–1372.
7. Zuñiga L., Calvo B.: *Global Vision about the Biological Medicinal Products: Biosimilars (April, 2009).* Curr. Pharm. Biotechnol. 2009;10:772–774.
8. Rathore A. S.: *Follow-on protein products: scientific issues, developments and challenges.* Trends Biotechnol. 2009;27(12):698–705.
9. Zuñiga L., Calvo B.: *Biosimilars approval process.* Regul. Toxicol. Pharmacol. 2009 – article in press.
10. Mellstedt H., Niederwieser D., Ludwig H.: *The challenge of biosimilars.* Ann Oncol. 2008;19(3):411–419.

