عنوان	**راهنمای مطالعات ثبت بیوسیمیلار**		
شماره	**GUI-DPNA-BIO-013**	**تاریخ شروع اجراء**	۱۴۰۴/۱۱/۲۰
شماره بازنگری	**00**	**تاریخ اعتبار**	-

راهنمای مطالعات ثبت بیوسیمیلار

عنوان	راهنمای مطالعات ثبت بیوسیمیلار		
شماره	GUI-DPNA-BIO-013	تاریخ شروع اجراء	۱۴۰۴/۱۱/۲۰
شماره بازنگری	00	تاریخ اعتبار	-

۱-مقدمه..... ۹

۲-چارچوب‌های مرجع (Reference Frameworks) ۱۰

۲-۱-هدف..... ۱۰

۲-۲-اسناد اروپایی(EMA) ۱۰

۲-۳-اسناد هماهنگ‌سازی بین‌المللی(ICH) ۱۰

۲-۴-دستورالعمل سازمان جهانی بهداشت(WHO) ۱۰

۲-۵-دستورالعمل سازمان غذا و داروی آمریکا(FDA) ۱۱

۳-تعاریف و مفاهیم پایه..... ۱۱

۳-۱-مفاهیم عمومی..... ۱۱

۳-۲-کیفیت و ویژگی ها..... ۱۲

۳-۳-مفاهیم فارماکولوژیک و ایمنی ۱۲

۳-۴-آمار و تصمیم‌گیری شباهت ۱۳

۴-دامنه کاربرد و شرایط استفاده از رویکرد متناسب..... ۱۳

۴-۱-هدف و چارچوب..... ۱۳

۴-۲-فرآورده‌های مشمول..... ۱۳

۴-۳-فرآورده‌های غیرمشمول..... ۱۴

۴-۳-۱-غیر قابل قبول بودن رویکرد حذف یا کاهشCES بر مبنای محصول..... ۱۴

عنوان	راهنمای مطالعات ثبت بیوسیمیلار		
شماره	GUI-DPNA-BIO-013	تاریخ شروع اجراء	۱۴۰۴/۱۱/۲۰
شماره بازنگری	00	تاریخ اعتبار	-

۴-۳-۲-غیر قابل قبول بودن رویکرد حذف یا کاهشCES بر مبنای شرایط ۱۴

۴-۴-مراحل و فعالیت‌های تحت پوشش..... ۱۴

۴-۵-شرایط لازم برای استفاده از مسیر حذف یا کاهشCES ۱۵

۴-۶-سازگاری با شکل دارویی و دستگاه ۱۶

۵-الزامات تعیین مشخصات کیفی..... ۱۶

۵-۱-اصول عمومی..... ۱۶

۵-۲-قابلیت مقایسه Comparability ۱۶

۵-۲-۱-بیوسیمیلار و Comparability : ۱۷

۵-۲-۲-ویژگی‌های کیفی مشابه(Similar Analytical Quality Attributes) : ۱۷

۵-۳-پیش‌نیازهای ارزیابی شباهت (Prerequisites for Similarity Assessment) ۱۸

۵-۳-۱-شناخت کامل مکانیسم اثر(MoA) ۱۸

۵-۳-۲-شناسایی و رتبه‌بندیQA ها ۱۹

۵-۳-۳-روش‌های آنالیزی اورتوگونال (Orthogonal Analytical Methods) ۲۰

۵-۳-۴وجود آزمون‌های عملکرد زیستی(In Vitro Bioassays) ۲۰

۵-۳-۵-نمایه‌سازی تغییرپذیری داروی مرجع(RMP) : ۲۰

۵-۳-۶-قابلیت تولید پایدار و یکنواخت بیوسیمیلار ۲۱

۵-۳-۷-وجود پروتکل مدون برای ارزیابی شباهت..... ۲۱

عنوان	راهنمای مطالعات ثبت بیوسیمیلار		
شماره	GUI-DPNA-BIO-013	تاریخ شروع اجراء	۱۴۰۴/۱۱/۲۰
شماره بازنگری	00	تاریخ اعتبار	-

۵-۴-پروتکل ارزیابی شباهت(Similarity Assessment Protocol) ۲۲

۵-۴-۱-هدف و دامنه ۲۲

۵-۴-۲-فهرست QAs وCQAs ۲۲

۵-۴-۳-روش‌های آنالیزیOrthogonal ۲۲

۵-۴-۴-شرط و معیار شباهت برای هر ویژگی..... ۲۳

۵-۴-۵-طراحی و تعداد سری ساخت‌ها (RMP وBiosimilar) ۲۶

۵-۴-۶-برنامه اعتبارسنجی روش‌ها..... ۲۶

۵-۴-۷-طرح آماری و کنترل چندگانگی ۲۶

۵-۴-۸-تحلیل ریسک تفاوت‌ها ۲۷

۵-۴-۹-توجیه انتخاب رویکرد بالینی(Tailored Clinical Approach) ۲۷

۵-۴-۱۰-گزارش انحرافات و تصمیم عبور/عدم عبور ۲۷

۵-۵-سری ساخت‌های مورد استفاده در ارزیابی شباهت(Batches to be Included in the Similarity Assessment) ۲۸

۵-۵-۱-سری ساخت‌های محصول مرجع(RMP) ۲۸

۵-۵-۲-سری ساخت‌های محصول بیوسیمیلار ۲۹

۵-۶-ملاحظات آنالیزی(Analytical Considerations) ۲۹

۵-۶-۱-روش‌های پیشرفته و هم‌راستا..... ۲۹

۵-۶-۲-گنجاندن آزمون‌های عملکردی (فارماکولوژیIn Vitro) ۳۰

عنوان	راهنمای مطالعات ثبت بیوسیمیلار		
شماره	GUI-DPNA-BIO-013	تاریخ شروع اجراء	۱۴۰۴/۱۱/۲۰
شماره بازنگری	00	تاریخ اعتبار	-

۵-۶-۳-یکنواختی روش‌ها در طول توسعه ۳۰

۵-۶-۴-تفکیک تفاوت واقعی از خطای روش ۳۱

۵-۷-ابهامات در ارزیابی شباهت (Uncertainties in the Similarity Assessment) ۳۱

۵-۷-۱-ساختار اولیه و ساختار مرتبه‌بالا..... ۳۱

۵-۷-۲-محتوای پروتئین..... ۳۲

۵-۷-۳-فعالیت بیولوژیک..... ۳۲

۵-۷-۴-الگوی بار الکتریکی (Charge Variants) ۳۳

۵-۷-۵-گلیکوزیلاسیون..... ۳۳

۵-۷-۶-ناخالصی‌ها..... ۳۴

۵-۷-۷-جمع‌بندی بخش ابهامات ۳۴

۶-مطالعات انسانی، فارماکوکینتیک، ایمنی و ایمونوژنیسیته..... ۳۵

۶-۱-اصل کلی..... ۳۵

۶-۲-طراحی مطالعه فارماکوکینتیک انسانی..... ۳۵

۶-۲-۱-طراحی و جمعیت..... ۳۵

۶-۲-۲-پارامترهای اصلی..... ۳۵

۶-۲-۳-تطبیق محتوا..... ۳۵

۶-۳-مطالعه فارماکودینامیک (PD) در صورت نیاز ۳۶

عنوان	راهنمای مطالعات ثبت بیوسیمیلار		
شماره	GUI-DPNA-BIO-013	تاریخ شروع اجراء	۱۴۰۴/۱۱/۲۰
شماره بازنگری	00	تاریخ اعتبار	-

۶-۴-ارزیابی ایمنی و ایمونوژنیسیته..... ۳۶

۶-۴-۱-هدف ۳۶

۶-۴-۲-مطالعه ایمونوژنیسیته Immunogenicity Study..... ۳۶

۶-۴-۳-پایش پس از ورود به بازار ۳۶

۷-تصمیم‌گیری نهایی، برچسب‌گذاری و تغییرات پس از ثبت..... ۳۶

۷-۱-تصمیم‌گیری نهایی..... ۳۶

۷-۲-برچسب‌گذاری(Labelling) ۳۷

۷-۳-تغییرات پس از ثبت(Post-Approval Changes) ۳۷

۷-۴-بازنگری و به‌روزرسانی راهنما..... ۳۷

۸-مطالعات in vivo..... ۳۷

۹- پیوست‌ها ۳۸

۹-۱-پیوست A چک‌لیست اجرایی ۳۸

۹-۱-۱-کلیات..... ۳۸

۹-۱-۲-شناسایی QA / CQA و تحلیل ریسک ۳۸

۹-۱-۳-ابزارها و داده‌های آنالیزی..... ۳۹

۹-۱-۴-داروی مرجع و تغییرپذیری طبیعی..... ۳۹

۹-۱-۵-قابلیت تولید بیوسیمیلار..... ۳۹

عنوان	راهنمای مطالعات ثبت بیوسیمیلار		
شماره	GUI-DPNA-BIO-013	تاریخ شروع اجراء	۱۴۰۴/۱۱/۲۰
شماره بازنگری	00	تاریخ اعتبار	-

۹-۱-۶-پروتکل ارزیابی شباهت(Similarity Protocol) ۳۹

۹-۱-۷-معیارها و شرط شباهت..... ..... ۴۰

۹-۱-۸-ارزیابی بالینی وPK/PD ۴۰

۹-۱-۹-پس از تأیید و چرخه عمر محصول..... ..... ۴۰

۹-۲-پیوست B – دسته‌بندی سطح پیچیدگی محصولات زیستی ۴۰

۹-۲-۱-پیچیدگی پایین: (Low Complexity; Single-Mechanism / Fc-independent) ۴۱

۹-۲-۲-پیچیدگی متوسط: (Moderate Complexity; Fc-modulated / Multi-pathway but delineated).....۴۱

۹-۲-۳-پیچیدگی بالا *(High Complexity; Multi-mechanistic / Engineered / Immuno-modulatory)* ۴۲

۹-۳-پیوست C مطالعات ارزیابی کیفی ۴۴

۹-۳-۱-مطالعات ارزیابی کیفی مولکول بیوسیمیلار به صورت جدول زیر است ۴۴

۹-۳-۲-توضیحات کلمات مخفف استفاده شده به شرح زیر است: ۴۸

۹-۳-۳-مطالعات ارزیابی کیفی سلول تولید کننده ۴۹

۹-۴-پیوست D مثال های رگولاتوری درباره حذف مطالعه تطبیقی اثربخشی/ایمنی «Waive CES» ۵۴

۹-۴-۱- G-CSF فیلگراستیم/پگ‌فیلگراستیم) الگوی کلاسیک حذفCES ۵۴

۹-۴-۲- PTHتری‌پاراتاید «CES-Light» (با اتکای اصلی به PK و PD ساده) ۵۴

۹-۴-۳-مونوکلونال آنتی‌بادی‌ها — (mAbs) جریان جدید«Waive CES» ۵۵

۹-۵-پیوست E رویکردهای رگولاتوری در خصوص مطالعات PK/PD ۵۵

عنوان	راهنمای مطالعات ثبت بیوسیمیلار		
شماره	GUI-DPNA-BIO-013	تاریخ شروع اجراء	۱۴۰۴/۱۱/۲۰
شماره بازنگری	00	تاریخ اعتبار	-

جدول توزیع نسخ

	محل نگهداری	تعداد سند
نسخه اصلی	اداره بیولوژیک	۱ نسخه
نسخه کپی	واحد سیستم مدیریت کیفیت	۱ نسخه

این نسخه، تحت کنترل و غیرقابل تغییر است.

هر گونه تغییر در این سند، باید بر اساس SOP-DPNA-BIO-001 انجام شود.

تعداد کل صفحات این راهنما ۶۱ صفحه می باشد.

تاریخچه بازنگری

***کارشناسان باید از معتبر بودن آخرین نسخه این سند اطمینان حاصل کنند.**

شماره بازنگری	تاریخ بازنگری	شرح مختصربازنگری	صفحات مورد بازنگری

عنوان	راهنمای مطالعات ثبت بیوسیمیلار		
شماره	GUI-DPNA-BIO-013	تاریخ شروع اجراء	۱۴۰۴/۱۱/۲۰
شماره بازنگری	00	تاریخ اعتبار	-

۱- مقدمه

این راهنما با هدف **هم راستا کردن الزامات ملی** با رویکردهای نوین نهادهای مرجع بین‌المللی در حوزه **توسعه فرآورده‌های Biosimilar** تدوین شده است.

اصل راهبردی این سند، **اتکا بر مجموع شواهد – Totality of Evidence –** است و تمرکز آن بر اثبات **شباهت کیفی و عملکردی – Analytical and Functional Similarity –** از طریق توصیف دقیق ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، آزمون‌های عملکردی مرتبط با مکانیسم اثر، و **مطالعه انسانی فارماکوکینتیک – PK Study–** می‌باشد.

در مواردی که داده‌های آنالیزی و عملکردی با دقت بالا ارائه شوند و بتوانند عدم‌قطعیت‌های باقیمانده را از منظر اثربخشی و ایمنی به‌طور علمی رفع نمایند، **نیاز به کارآزمایی‌های مقایسه‌ای اثربخشی و ایمنی – CES –** می‌تواند حذف یا کاهش یابد. همان‌طور که در Reflection Paper 2025 منتشر گردید؛ EMA باور دارد بسیاری از مطالعات CES اطلاعات جدیدی اضافه نمی‌کنند. همچنین، FDA با انتشار راهنمای نهایی در ۲۰۲۵، صراحتاً اشاره دارد که در برخی موارد شاید داده‌های آنالیزی و PKکافی باشند. FDA و EMA بر اتکا به مجموع شواهد - totality of evidence - تأکید دارند.

این سند با رعایت اصول **قابلیت مقایسه – Comparability –** و **مدیریت ریسک – Risk Management –**، یک چارچوب **موردبه‌مورد و مبتنی بر ریسک** ارائه می‌دهد تا مسیر توسعه بیوسیمیلارها شفاف، کارآمد و متناسب با ظرفیت ملی (کاهش چشمگیر هزینه های توسعه محصول، صرفه جویی ارزی و افزایش سرعت تایید پروانه های محصولات بیوسیمیلار) باشد.
در عین حال، در شرایطی که مکانیسم اثر **– Mechanism of Action (MoA) –** به‌خوبی شناخته نشده یا رابطه ساختار–عملکرد ناقص باشد و یا تفاوت‌های کیفی معنادار از نظر بالینی محتمل باشند، الزام به انجام مطالعات **CES** به قوت خود باقی می‌ماند. هدف کاربردی این سند، **کاهش مطالعات غیرضروری بدون اغماض علمی و صیانت از ایمنی بیمار** است تا دسترسی بیماران به درمان‌های ایمن، مؤثر و مقرون‌به‌صرفه تسهیل گردد.

این سند هم‌زمان بر **پویایی و به‌روزرسانی مستمر** تأکید دارد و با انباشت تجربه ملی و جهانی به‌صورت دوره‌ای بازنگری خواهد شد.

عنوان	راهنمای مطالعات ثبت بیوسیمیلار		
شماره	GUI-DPNA-BIO-013	تاریخ شروع اجراء	۱۴۰۴/۱۱/۲۰
شماره بازنگری	00	تاریخ اعتبار	-

۲- چارچوب‌های مرجع (Reference Frameworks)

۲-۱- هدف

این راهنما باید در زمان تهیه و ارزیابی پرونده‌های بیوسیمیلار مورد استناد قرار گیرند. منابع شامل دستورالعمل‌های آژانس دارویی اروپا(**EMA**) ، سازمان غذا و داروی آمریکا(**FDA**) ، هماهنگ‌سازی بین‌المللی(**ICH**) ، و دستورالعمل سازمان جهانی بهداشت (**WHO**) می‌باشند.

۲-۲- اسناد اروپایی(EMA)

Reflection Paper on a Tailored Clinical Approach in Biosimilar Development (EMA/CHMP/BMWP/60916/2025)

Guideline on Similar Biological Medicinal Products (CHMP/437/04 Rev.1)

Similar Biological Products Containing Biotechnology-Derived Proteins: Quality Issues(EMA/CHMP/BWP/247713/2012)

Similar biological medicinal products containing biotechnology-derived proteins as active substance: non-clinical and clinical issues(EMEA/CHMP/BMWP/42832/2005 Rev.1)

Guideline on Monoclonal Antibodies (EMA/CHMP/BMWP/403543/2010)

Immunogenicity Assessment of Therapeutic Proteins (EMEA/CHMP/BMWP/14327/2006 Rev.1)

Statistical Methodology for Comparative Assessment of Quality Attributes (EMA/CHMP/138502/2017)

۲-۳- اسناد هماهنگ‌سازی بین‌المللی(ICH)

ICH Q5E – Comparability of Biotechnological/Biological Products

ICH Q9 – Quality Risk Management

ICH Q6B – Specifications: Test procedures and Acceptance Criteria for Biotechnological/Biological Products

۲-٤- دستورالعمل سازمان جهانی بهداشت(WHO)

WHO Guidelines on Evaluation of Biosimilars (2022)

عنوان	راهنمای مطالعات ثبت بیوسیمیلار		
شماره	GUI-DPNA-BIO-013	تاریخ شروع اجراء	۱۴۰۴/۱۱/۲۰
شماره بازنگری	00	تاریخ اعتبار	-

۲-۵- دستورالعمل سازمان غذا و داروی آمریکا(FDA)

Development of Therapeutic Protein Biosimilars: Comparative Analytical Assessment and Other Quality-Related Considerations (2025)

Scientific Considerations in Demonstrating Biosimilarity to a Reference Product: Updated Recommendations for Assessing the Need for Comparative Efficacy Studies (FDA Draft/2025)

۳- تعاریف و مفاهیم پایه

۳-۱- مفاهیم عمومی

داروی مرجع(**RMP**) Reference Medicinal Product: فرآورده زیستی دارای پروانه معتبر از سازمان های نظارتی مورد تایید است که مبنای اصلی مقایسه برای ارزیابی و اثبات شباهت فرآورده‌های بیوسیمیلار محسوب می‌شود. این دارو باید بر اساس یک مجموعه کامل و مستقل از داده‌های کیفیت، مطالعات nonclinical ، ایمنی و اثربخشی تأیید و مجوز دریافت کرده باشد. به همین دلیل، یک فرآورده بیوسیمیلار خود نمی‌تواند به عنوان داروی مرجع استفاده شود.

بیوسیمیلار **Biosimilar** : فرآورده زیستی که از نظر کیفیت، عملکرد زیستی، و رفتار فارماکوکینتیکی بدون لزوم یکسانی مطلق همه ویژگی‌ها شباهت بالایی به داروی مرجع دارد.

قابلیت مقایسه**Comparability**: فرایند علمی برای نشان‌دادن شباهت محصول بیوسیمیلار یا محصول پس از تغییر فرایند از نظر ویژگی‌های کیفی با محصول مرجع یا محصول قبل از تغییرات می باشد. در این فرآیند باید مشخص شود که تفاوت های مشاهده شده هیچ تأثیر نامطلوبی بر ایمنی یا اثربخشی (از جمله ایمنی‌زایی) فرآورده ندارد.

مجموع شواهد**Totality of Evidence**: تصمیم‌گیری نهایی رگولاتور بر اساس مجموعه یکپارچه داده‌های آنالیزی، عملکردی، **PK/PD** و ایمنی.

کارآزمایی‌های مقایسه‌ای اثربخشی و ایمنی Comparative Efficacy Study (CES): مطالعات بالینی که برای سنجش اثر بخشی داروها به کار گرفته می‌شود تا نشان دهد داروی بیولوژیک، بیوسیمیلار داروی مرجع می‌باشد.

۳-۲- کیفیت و ویژگی ها

ویژگی کیفی(**QA**) Quality Attribute : هر ویژگی قابل‌سنجش که کیفیت محصول را توصیف می‌کند (مانند بار ایزوالکتریک، گلیکوزیلاسیون، یا ناخالصی ها و ...).

ویژگی کیفی بحرانی(**CQA**) Critical Quality Attribute : ویژگی‌ای از محصول که بر ایمنی، اثربخشی، یا ایمونوژنیسیته اثر دارد و باید کنترل شود.

پروفایل هدف کیفی محصول(**QTPP**) Quality Target Product Profile:

خلاصه ای آینده نگر از ویژگی های کیفی محصول که ضمن در نظر گرفتن ایمنی و اثربخشی آن، در صورت حصول منجر به اطمینان از کیفیت مطلوب فرآورده خواهد شد.

راهبرد کنترلی Control Strategy: مجموعه روش‌ها و حدودی که تضمین می‌کند سری ساخت‌های آتی در محدوده شباهت با داروی مرجع باقی بمانند.

پروتکل ارزیابی شباهت Similarity Assessment Protocol : سندی که از پیش بین متقاضی و رگولاتور توافق شده و در آن فهرست QAs/CQAs ، روش‌ها، معیارها و نحوه ارزیابی تفاوت‌ها تعیین شده است.

۳-۳- مفاهیم فارماکولوژیک و ایمنی

مکانیسم اثر(**MoA**) : مسیرهای زیستی که دارو از طریق آن‌ها اثر درمانی خود را اعمال می‌کند.

فارماکوکینتیک(**PK**) : توصیف جذب، توزیع، متابولیسم و دفع دارو.

فارماکودینامیک(**PD**) : توصیف پاسخ‌های زیستی و شاخص‌های اثر دارو.

ایمونوژنیسیته Immunogenicity : پتانسیل دارو برای ایجاد پاسخ ایمنی از نوع آنتی‌بادی‌های ضد دارو یا خنثی کننده (ADA/NAb) و اثرات بالینی مرتبط.

عنوان	راهنمای مطالعات ثبت بیوسیمیلار		
شماره	GUI-DPNA-BIO-013	تاریخ شروع اجراء	۱۴۰۴/۱۱/۲۰
شماره بازنگری	00	تاریخ اعتبار	-

ایمونوژنیسیته به معنای توانایی یک داروی زیستی در القای پاسخ ایمنی در بدن بیـــــــمار است که می‌تواند منجر به تشکیل **آنتی‌بادی‌های ضددارو Anti-Drug) (Antibodies; ADA** و در برخی موارد **آنتی‌بادی‌های خنثی‌کننده (Neutralizing Antibodies; NAb)** شود. این پاسخ ممکن است موجب **کاهش اثربخشی دارو، تغییر در فارماکوکینتیک، یا بروز واکنش‌های ناخواسته ایمنی** گردد. بنابراین ارزیابی ایمونوژنیسیته باید شامل طراحی آزمون‌های حساس و اختصاصی، پایش در طول درمان، و تحلیل ارتباط نتایج با پیامدهای بالینی باشد.

۳-٤- آمار و تصمیم‌گیری شباهت

شرط شباهت Similarity Condition: تعریف رسمی از این‌که چه زمانی یک ویژگی بین بیوسیمیلار و مرجع مشابه تلقی می‌شود.

معیار شباهت Similarity Criterion: قاعده تصمیم آماری برای پذیرش یا رد شباهت با کنترل خطاهای آماری نوع اول و دوم.

رویکرد جمعیت در جمعیت: روش آماری برای **QAs** پیوسته که درصد مشخصی از جمعیت بیوسیمیلار باید در محدوده درصدی از جمعیت **RMP** قرار گیرد.

۴- دامنه کاربرد و شرایط استفاده از رویکرد متناسب

٤-۱- هدف و چارچوب

این راهنما حدود استفاده از رویکرد **بالینی متناسب – Tailored Clinical Approach –** را در توسعه بیوسیمیلارها مشخص می‌کند.

تمرکز بر **محصولات به خوبی مشخصه یابی شده –Highly Characterized Products –** است که برای آن‌ها داده‌های آنالیزی، عملکردی و PK انسانی کفایت علمی دارند.

٤-۲- فرآورده‌های مشمول

این راهنما بر کلیه محصولات زیستی و پپتیدی که از نظر آنالیزی و عملکردی قابل‌توصیف دقیق هستند اعمال می‌شود، شامل:

- آنتی‌بادی‌های مونوکلونال با مکانیسم اثر شناخته‌شده و قابلیت ارزیابی عملکردهای Fc مانندADCC ، CDC وFcRn ؛
- پروتئین‌های کوچک و پپتیدها با ساختار ساده‌تر؛

- انسولین‌ها و آنالوگ‌های آن‌ها (در قالب دارو یا ترکیب دارو–دستگاه)؛
- آنزیم‌های درمانی با قابلیت توصیف دقیق ساختار گلیکان و فعالیت؛
- فاکتورهای انعقادی با آزمون‌های عملکردی استاندارد؛
- پروتئین‌های ادغامی (Fusion Proteins) که دومین‌های عملکردی جداگانه دارند.

٤-٣- فرآورده‌های غیرمشمول

٤-٣-١- غیر قابل قبول بودن رویکرد حذف یا کاهشCES بر مبنای محصول

- فرآورده با مکانیسم اثر ناشناخته یا چندوجهی با عدم‌قطعیت زیاد؛
- محصولاتی که ویژگی‌های آن‌ها به خوبی قابل شناسایی نیست و یا ابزارهای شناسایی کافی برای آنها وجود ندارد؛
- فرآورده‌های با جذب سیستمیک ناچیز (مثلاً موضعی یا چشمی)؛
- فرآورده‌های سلولی و ژن‌درمانی با ساختار بسیار پیچیده؛

این محصولات ماهیت بسیار پیچیده‌ای دارند (Cellular Heterogeneity Vector Integration In-vivo Expression) و تعیین مشخصات آن‌ها با ابزار کلاسیک بیوسیمیلارها امکان پذیر نیست. به همین دلیل، داده‌های بالینی برای ارزیابی کارایی و ایمنی ضروری‌اند.

٤-٣-٢- غیر قابل قبول بودن رویکرد حذف یا کاهشCES بر مبنای شرایط

در صورت رخداد هر یک از موارد زیر حذف CES امکانپذیر نیست:

- عدم امکان طراحی **PK** انسانی معتبر؛
- عدم حساسیت و دقت کافی داده‌های کیفیت (چه به دلیل محدودیت فناوری چه به دلیل طراحی ضعیف مطالعه)
- تفاوت‌های کیفی مهم در **CQAs** که می توانند تاثیر بالینی بالقوه بر ایمنی یا اثربخشی داشته باشند.

اگر در CQAs (مثلاً گلیکوزیلاسیون، Aggregation یا فعالیتFc) تفاوت معنادار مشاهده شود که می‌تواند بر ایمنی، اثربخشی یا PK تأثیر بگذارد، حذف CES قابل دفاع نیست و باید با داده بالینی جبران شود

٤-٤- مراحل و فعالیت‌های تحت پوشش

- ارزیابی اولیه بیوسیمیلار با تکیه بر داده‌های کیفیت و **PK** انسانی تطبیقی؛

در این بند، منظور از **(Comparative Human PK Study)** معمولاً انجام مطالعه در **داوطلبان سالم (Healthy Volunteers – HV)** است، مگر آن‌که ملاحظات ایمنی یا اخلاقی اجازه ندهد.

عنوان	راهنمای مطالعات ثبت بیوسیمیلار		
شماره	GUI-DPNA-BIO-013	تاریخ شروع اجراء	۱۴۰۴/۱۱/۲۰
شماره بازنگری	00	تاریخ اعتبار	-

- در اغلب بیوسیمیلارها (مانند **انسولین**، **G-CSF**، **EPO**، **GH**و حتی برخیmAb ها با ایمنی مناسب)، مطالعه **PKدر HV** انجام می‌شود چون:
  - ✓ خطای بین‌فردی کمتر است ← حساسیت مطالعه برای تشخیص تفاوت افزایش می‌یابد.
  - ✓ تداخلات بیماری یا داروی همزمان وجود ندارد ← نتیجه صرفاً منعکس‌کننده ویژگی دارو است.
  - ✓ طراحی متقاطع (Cross-over) عملی‌تر و از نظر آماری قوی‌تر است.
- اما اگر **ایمنی دارو در HV قابل‌اطمینان نباشد** (مثلاً درmAb های سیتوتوکسیک یا ایمونومدولاتورهای قوی)، مطالعه باید در **جمعیت بیمار (Patients)** انجام شود و معمولاً طراحی به‌صورت **Parallel** است.

٤-٥- شرایط لازم برای استفاده از مسیر حذف یا کاهش CES

- شناخت کافی از مکانیسم اثر و روابط ساختار-عملکرد.
- آنالیز اورتوگونال با تعداد کافی از سری ساخت‌های داروی مرجع
- مطالعه انسانی **PK** تطبیقی طراحی‌شده با هم‌ترازی محتوای پروتئین و کنترل سوگیری Bias Control.

هم‌ترازی محتوای پروتئین:(Protein Content Alignment)

قبل از انجام مطالعه، باید غلظت واقعی ماده مؤثره (Active Protein) در هر دو فرآورده، به‌صورت تجربی اندازه‌گیری شود (مثلاً با **Amino Acid Analysis**یا **UV A280**با **ضریب خاموشی تجربی**) تا مقدار دوز تزریقی دقیقاً برابر باشد. هرگونه اختلاف در غلظت واقعی می‌تواند منجر به تفاوت ظاهری در پارامترهای PK (مثل AUC یاCmax) شود و باعث نتیجه‌گیری نادرست گردد.

کنترل سوگیری Bias Control

طراحی مطالعه باید به‌گونه‌ای باشد که تمام عوامل غیرمرتبط با خود دارو(مانند تفاوت در دمای تزریق، روش رقیق‌سازی، توالی تزریق در طراحیCross-over ، و انتخاب جمعیت داوطلب) به حداقل برسند. رعایت اصول تصادفی‌سازی(Randomization) ، کورسازی(Blinding) ، کنترل شرایط نگهداری نمونه و اعتبارسنجی روش زیست‌آنالیزی (Bioanalytical Validation)برای حذف این سوگیری‌ها ضروری است.

- پروتکل شباهت از پیش تعیین شده با تعریف معیار و شرط شباهت

جدول1 - مثالهایی ازشرایط لازم برای حذف یا کاهشCES

پیش‌شرط	توضیح
شباهت آنالیزی و عملکردی کامل	تفاوت‌های کیفی بی‌اهمیت بالینی
MoA شناخته‌شده و قابل‌توصیف	ارتباط ساختار–عملکرد واضح
مطالعه PK انسانی معتبر	محدوده ۸۰–۱۲۵٪ برای AUC وCmax
ایمونوژنیسیته مشابه	بدون تفاوت معنادار درADA/NAb
داده‌های ایمنی قابل‌قیاس	عوارض مشابه از نظر شدت و بروز

٤-٦- سازگاری با شکل دارویی و دستگاه

در محصولات دارو–دستگاه (مانند قلم انسولین)، علاوه بر کیفیت و عملکرد دارو، مطالعه کفایت عملکردی دستگاه و قابلیت استفاده (**Usability**) نیز الزامی است.

۵- الزامات تعیین مشخصات کیفی

۵-۱- اصول عمومی

اساس ارزیابی شباهت ماده موثره بیولوژیک بر **رابطه ساختار–عملکرد- Structure-Function Relationship** - استوار است. در فارماکولوژی یک اصل پذیرفته‌شده وجود دارد که «ساختار تعیین‌کننده عملکرد است». به بیان دیگر، اگر ساختار یک ماده فعال (خواه یک مولکول کوچک مثل پاراستامول یا یک پروتئین بزرگ مثل آنتی‌بادی مونوکلونال) ثابت بماند، عملکرد زیستی و اثربخشی آن نیز ثابت خواهد ماند. این اصل به محصولات زیستی نیز گسترش یافته است: اگر دو پروتئین ساختاری یکسان یا بسیار مشابه داشته باشند، به گیرنده‌های یکسان اتصال یافته و در نتیجه اثربخشی (efficacy) و ایمنی یکسانی خواهند داشت. این موضوع پایه علمی مفهوم «بیوسیمیلار» است. بنابراین، میتوان نتیجه گرفت داروی بیوسیمیلار با داروی مرجع شباهت بالینی دارند.

تفاوت‌های جزئی در ویژگی ها، که منجر به تفاوت های بی اهمیت بالینی می‌شوند، پذیرفتنی‌اند ولی اختلاف در **ویژگی‌های بحرانی –CQAs**– که بر **PK، ایمنی یا ایمنوژنیسیته** موثرند، غیر قابل قبول محسوب می‌شوند.

تصمیم نهایی مبتنی بر **مجموع شواهد - Totality of Evidence** - شامل داده‌های فیزیکوشیمیایی، in vitro و مطالعه PK انسانی است؛ **CES ابزار پشتیبان است، نه جایگزین توسعه کیفی ناقص.**

اساس ارزیابی شباهت این است که هر تفاوت در ساختار مولکول زیستی، تنها زمانی اهمیت دارد که بر عملکرد بالینی اثر بگذارد. بنابراین ابتدا باید مسیرهای عملکردی مرتبط با مکانیسم اثر (MoA) مشخص شوند، سپس ارزیابی کیفی بر اساس همان عملکردها طراحی گردد. ارزیابی شباهت ساختاری بدون تحلیل عملکردی کافی نیست. برای مثال، در آنتی‌بادی‌ها، شباهت در توالی و گلیکوزیلاسیون تنها زمانی قابل قبول است که فعالیت‌های Fc مانند ADCC یا CDC نیز مشابه باشند.

۵-۲- قابلیت مقایسه Comparability

راهنمای ICH Q5E واژه قابل‌قیاس (comparable) را چنین تعریف می‌کند: «نتیجه‌گیری‌ای که طی آن محصولات قبل و بعد از تغییرات ساخت، از نظر ویژگی‌های کیفی به‌شدت مشابه بوده و هیچ تأثیر نامطلوبی بر ایمنی یا اثربخشی (از جمله ایمنی‌زایی)

عنوان	راهنمای مطالعات ثبت بیوسیمیلار		
شماره	GUI-DPNA-BIO-013	تاریخ شروع اجراء	۱۴۰۴/۱۱/۲۰
شماره بازنگری	00	تاریخ اعتبار	-

محصول نهایی مشاهده نشود». نکته مهم در این تعریف آن است که لزومی ندارد تمام ویژگی‌های کیفی دو محصول کاملاً یکسان باشند؛ بلکه بسیار مشابه بودن کافی است، مشروط بر این‌که دانش موجود نشان دهد تفاوت‌های جزئی، اثر نامطلوبی بر ایمنی و اثربخشی ندارند. به بیان ساده، وجود اختلافات کیفی جزئی قابل قبول است به شرط آن‌که از نظر بالینی بی‌اهمیت باشند. این مفهوم طی دهه‌های اخیر بسیار موفق بوده و به تولیدکنندگان اجازه داده است تا بدون انجام مطالعات بالینی غیرضروری، تغییرات عمده‌ای را در فرایند تولید بیوسیمیلارها اعمال کنند. برای مثال، تعویض بانک سلولی اصلی (Master Cell Bank) یک محصول زیستی – که از منظر علمی وضعیتی مشابه تولید یک بیوسیمیلار دارد – تنها با یک مطالعه مقایسه‌ای جامع کیفی انجام شده و نیازی به تکرار کارآزمایی بالینی نبوده است.

۱-۲-۵- بیوسیمیلار و Comparability :

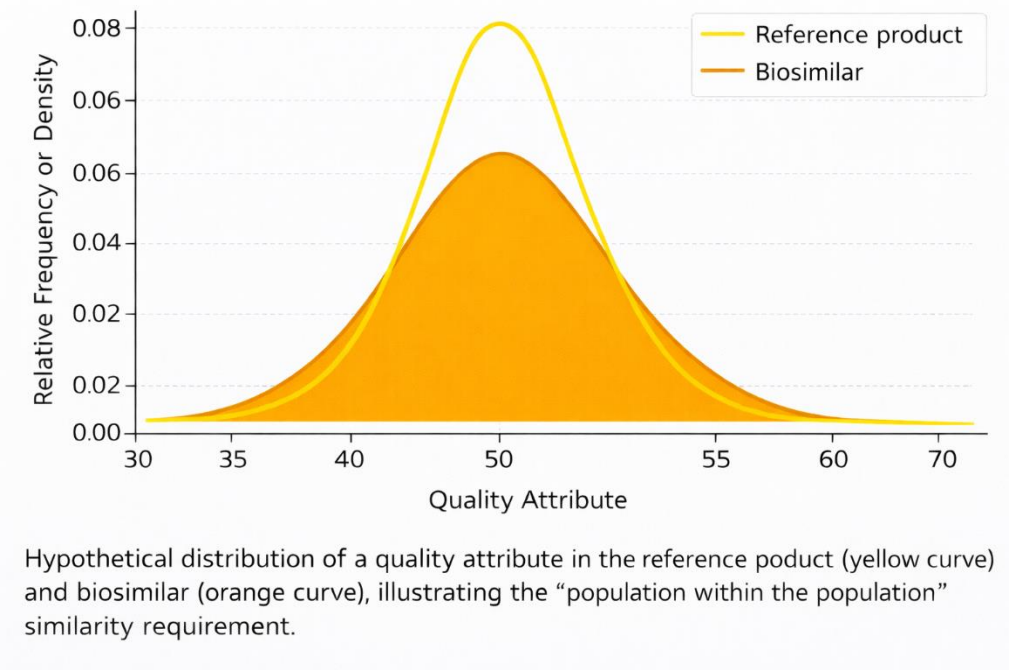
ارزیابی شباهت یک بیوسیمیلار مبتنی بر همان اصول علمی ارزیابی تغییرات تولید یک محصول زیستی است. باید شواهد مقایسه‌ای کافی ارائه شود تا ایمنی و اثربخشی مشابه بیوسیمیلار نسبت به محصول مرجع اثبات گردد یا با استدلال علمی توجیه شود. این بدان معناست که داده‌های کیفی (آنالیتیک) نقشی محوری در اثبات شباهت دارند و اگر از منظر کیفیت و فارماکوکینتیک تشابه کافی نشان داده شود، می‌توان از برخی مطالعات بالینی چشم‌پوشی کرد.

۲-۲-۵- ویژگی‌های کیفی مشابه(Similar Analytical Quality Attributes) :

در ارزیابی بیوسیمیلار، به مجموعه ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و زیستی محصول که باید بسیار نزدیک به محصول مرجع باشند، ویژگی‌های کیفی مشابه گفته می‌شود. برخلاف داروهای کوچک‌مولکول که هویت شیمیایی یکسان دارند، در بیوسیمیلارها تنوع ذاتی وجود دارد؛ دو سری تولید ممکن است تفاوت‌های کوچکی مثلاً در میزان انواع زنجیره‌های قندی، الگوی بار الکتریکی پروتئین، میزان تجمعات و غیره داشته باشند. رویکرد سنتی در گذشته، اصرار بر انجام مطالعه اثربخشی بالینی برای هر تفاوت بود. اما رویکرد نوین (براساس ICH Q5E و راهنماهای بیوسیمیلار) این است که اگر این تفاوت‌های آنالیزی نشان دهند که بر عملکرد بالینی اثر نمی‌گذارند، نیازی به مطالعات بالینی اضافه نیست. به عبارت دیگر، داده‌های آنالیزی قوی می‌توانند جایگزین بخشی از داده‌های بالینی شوند. البته اگر تفاوت بزرگ و معنی‌داری مشاهده شود که بالقوه بر اثربخشی یا ایمنی اثر دارد، آن وضعیت دیگر «مشابه» محسوب نشده و ممکن است حتی با انجام مطالعه بالینی (CES) هم جبران نشود.

شکل زیر مفهوم «بازه جمعیتی مرجع و قرارگیری جمعیت بیوسیمیلار در آن» را به صورت شماتیک نشان می‌دهد که چگونه ویژگی‌های کیفی بیوسیمیلار باید در محدوده تغییرات طبیعی محصول مرجع باقی بماند:

عنوان	راهنمای مطالعات ثبت بیوسیمیلار		
شماره	GUI-DPNA-BIO-013	تاریخ شروع اجراء	۱۴۰۴/۱۱/۲۰
شماره بازنگری	00	تاریخ اعتبار	-



Hypothetical distribution of a quality attribute in the reference poduct (yellow curve) and biosimilar (orange curve), illustrating the “population within the population” similarity requirement.

نمودار توزیع فرضی یک ویژگی کیفی در محصول مرجع (منحنی زرد) و بیوسیمیلار (منحنی نارنجی) که محدوده تغییرپذیری طبیعی محصول مرجع را نشان می‌دهد. شرط شباهت «جمعیت درون جمعیت» ایجاب می‌کند درصد معینی از توزیع بیوسیمیلار (ناحیه نارنجی پررنگ) به طور کامل در محدوده توزیع مرجع قرار گیرد. در این مثال فرضی، تقریباً کل منحنی بیوسیمیلار در محدوده مرجع است که نشان‌دهنده شباهت قابل قبول می‌باشد.

۵-۳- پیش‌نیازهای ارزیابی شباهت (Prerequisites for Similarity Assessment)

پیش از آغاز ارزیابی تطبیقی میان بیوسیمیلار و محصول مرجع، باید برخی شرایط اساسی برقرار باشد. اصول علمی مطالعه مقایسه‌ای یک بیوسیمیلار مبتنی بر اصولی است که برای ارزیابی تأثیر تغییرات فرایند ساخت یک محصول زیستی به کار می‌رود (ICH Q5E) . همچنین تأکید شده که «ایمنی و اثربخشی مقایسه‌ای بیوسیمیلار نسبت به محصول مرجع باید اثبات یا توجیه گردد». با در نظر گرفتن این چارچوب، الزامات زیر به عنوان پیش‌نیازهای یک برنامه موفق ارزیابی شباهت شناخته می‌شوند:

۱-۳-۵- شناخت کامل مکانیسم اثر (MoA)

باید دانش جامعی در مورد مکانیسم عملکرد مولکول و ارتباط ساختار و عملکرد آن وجود داشته باشد. این دانش کمک می‌کند ویژگی‌های کیفی بحرانی (CQAها) که بر کارآیی یا ایمنی اثرگذارند شناسایی شوند. همچنین باید روشن شود که کدام جنبه‌های

مکانیسم اثر می‌توانند بر ایمنی و به‌ویژه بر بروز یا شدت ایمونوژنیسیته اثرگذار باشند، تا در ارزیابی آنالیزی و بالینی مورد توجه قرار گیرند.

باید دقیقاً مشخص شود که کدام بخش از مولکول مسئول اثر درمانی است (Binding Site، Effector Domain و غیره). در صورت چند مکانیسمی بودن، همه مسیرها باید پوشش داده شوند.

۵-۳-۲- شناسایی و رتبه‌بندی QA ها

بر پایه تحلیل ریسک و شواهد ساختار-عملکرد انجام شود. بدین ترتیب که، پس از شناسایی ویژگی‌های کیفی (QAها)، باید یک ارزیابی علمی ریسک انجام شود تا مشخص گردد کدام ویژگی‌ها بحرانی هستند (CQAها) و تغییر در هر کدام تا چه اندازه می‌تواند بر عملکرد بالینی اثر بگذارد. برای این کار از دانش پیشین درباره مولکول و فرآورده مرجع استفاده می‌شود (مثلاً می‌دانیم اتصال به گیرنده معینی عامل اثربخشی اصلی است، یا تجمعات پروتئینی می‌توانند ایمنی‌زایی را افزایش دهند). این پیش‌دانش مشخص می‌کند کدام آزمون‌ها و خواص را باید بحرانی در نظر بگیریم. به عنوان مثال:

- تعامل دارو با گیرنده‌ها/هدف‌ها (مثلاً اتصال به رسپتورهای سطح سلول یا لیگاندها) اساس بسیاری از اثرات بیولوژیک است. بنابراین ویژگی‌هایی که این تعاملات را تحت تأثیر قرار می‌دهند مثل ساختار جایگاه اتصال یا الگوهای گلیکوزیلاسیون در جایگاه‌های مربوط به گیرنده Fc بحرانی محسوب می‌شوند.
- همیشه نمی‌توان برای هر CQA یک ارتباط کمّی مستقیم با اثر بالینی یافت؛ چون اثربخشی نتیجه مجموع چندین عامل کیفی است. در این موارد، همان‌طور که EMA اشاره کرده، باید مجموعه ویژگی‌ها را به صورت کل‌نگر ارزیابی کرد و قضاوت را بر پایه کل داده‌های آنالیزی گذاشت.
- پس از ارزیابی اولیه ریسک، رتبه‌بندی میزان بحرانی بودن هر ویژگی انجام می‌شود. این رتبه‌بندی(که می‌تواند همسو با راهنمای ICH Q9 در مورد مدیریت ریسک کیفیت باشد) مشخص می‌کند کدام ویژگی‌ها در اولویت بررسی دقیق‌تر قرار دارند.

با استفاده از تحلیل ریسک (ICH Q9) و داده‌های ساختار–عملکرد، هر ویژگی کیفی باید طبقه‌بندی شود:

- بحرانی(Critical)
- مهم ولی غیربحرانی(Important but Non-critical)
- غیرمؤثر(Non-impacting)

این رتبه‌بندی تعیین می‌کند که تفاوت در کدام ویژگی ممکن است اثر بالینی ایجاد کند.

- FDA در پیش نویس رهنمود ۲۰۱۷ خود، یک سیستم سه‌لایه (Tiering) معرفی کرده است که می‌تواند برای انتخاب رویکرد آماری جهت بررسی ویژگی‌های کیفی استفاده شود.

۳-۵-۳- روش‌های آنالیزی اورتوگونال (Orthogonal Analytical Methods)

روش‌های آنالیزی مکمل (LC-MS، CEX-HPLC، cIEF، SEC-MALS، CD، FTIR، NMR، HDX-MS، و بیوتست‌های سلولی) باید در دسترس باشند تا بتوان جزئیات ساختاری و عملکردی مولکول را با دقت بالا تعیین کرد. هر ویژگی کیفی مهم باید با بیش از یک روش مکمل اندازه‌گیری شود تا اطمینان حاصل گردد که تفاوتی پنهان نمانده است.

برای هر ویژگی بحرانی، استفاده از حداقل دو روش آنالیزی اورتوگونال الزامی است تا هم‌پوشانی و صحت نتایج تضمین شود. به‌عنوان مثال، ساختار اول (Primary Structure) باید با روش‌های مکمل مانند Peptide Mapping (LC-MS/MS) و Intact Mass Analysis (LC-MS) بررسی گردد، در حالی که ساختار سوم (Tertiary Structure) با ترکیب روش‌های Circular Dichroism (CD)، Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) و در صورت لزوم Differential Scanning Calorimetry (DSC) مورد ارزیابی قرار می‌گیرد.

۴-۵-۳- وجود آزمون‌های عملکرد زیستی (In Vitro Bioassays)

آزمون‌های زیستی قابل اعتماد (مثلاً آزمون‌های اتصال به گیرنده یا آزمون‌های سلولی برای سنجش قدرت اثر) باید فراهم باشند تا مقایسه عملکرد بیولوژیک بیوسیمیلار و مرجع ممکن شود. این آزمون‌ها به‌طور مستقیم قدرت اثر و عملکرد مولکول را می‌سنجند و حتی می‌توانند به عنوان شاخص‌های غیرمستقیم برای تشابه ساختاری عمل کنند (چرا که اگر ساختار مولکول تفاوت کرده باشد، معمولاً در عملکرد in vitro منعکس می‌شود).

۵-۵-۳- نمایه‌سازی تغییرپذیری داروی مرجع (RMP) :

اگر تولید کننده خواستار تولید فرآورده بیوسیمیلار است و اطلاعاتی از آن در دسترس نیست باید حداقل ۱۰سری ساخت از برند تهیه کند (مقادیر کمتر باید به خوبی توجیه شوند و تعهدی مبنی بر تکمیل آنها به تعداد ۱۰عدد تا قبل از شروع مطالعه بالینی ارائه شود). آزمایش‌هایی که از نظر تولید کننده مهم است (مثال خلوص و ناخالصی) بر روی این سری ساخت‌ها صورت گرفته و مطالعات مقایسه‌ای بین داروی برند و محصول تولید شده انجام و نهایتا حدود هر یک از CQA های Specification را مشخص نماید.

ارزیابی حداقل ۱۰ سری ساخت از RMP برای تعیین محدوده طبیعی تغییرپذیری

به‌منظور تعیین محدوده تغییرات طبیعی داروی مرجع (RMP) و درک علمی از نوسان ذاتی ویژگی‌های کیفی آن، لازم است **حداقل ۱۰ سری ساخت مستقل** از داروی مرجع که در **تاریخ‌های مختلف تولید** و از **سری‌های تجاری متفاوت** تهیه شده‌اند، مورد بررسی آنالیزی قرار گیرند.

عنوان	راهنمای مطالعات ثبت بیوسیمیلار		
شماره	GUI-DPNA-BIO-013	تاریخ شروع اجراء	۱۴۰۴/۱۱/۲۰
شماره بازنگری	00	تاریخ اعتبار	-

این بررسی به تولیدکننده و رگولاتور امکان می‌دهد تا دامنه تغییرپذیری طبیعی ویژگی‌های کلیدی محصول مانند **الگوی گلیکوزیلاسیون، بار ایزوالکتریک، میزان تجمع پروتئینی، و فعالیت زیستی** را به‌طور کمی تعیین نمایند. داده‌های حاصل از این سری ساخت‌ها باید برای هر ویژگی کیفی (Quality Attribute) با روش‌های آماری مناسب — نظیر **میانگین ± ۳ SD** یا **فاصله تحمل با سطح اطمینان ۹۵ درصد و پوشش ۹۹ درصد — (Tolerance Interval)** تحلیل شوند تا محدوده پذیرش شباهت **(Similarity Acceptance Range)** تعریف گردد.

در مرحله بعد، نتایج بیوسیمیلار باید درون این محدوده قرار گیرد تا از نظر **آماری و بالینی** مشابه تلقی شود. هر ویژگی‌ای که مقدار آن از محدوده تغییر طبیعی داروی مرجع خارج گردد، نیازمند **تحلیل علمی، توجیه فنی، یا داده عملکردی تکمیلی (Functional Justification)** است تا عدم‌قطعیت برطرف شود.

این رویکرد، پایه تعریف معیار شباهت **(Similarity Criteria)** در ارزیابی آنالیزی محسوب شده و ابزار کلیدی برای تصمیم‌گیری علمی در مورد کفایت شباهت بیوسیمیلار با داروی مرجع است.

۵-۳-۶- قابلیت تولید پایدار و یکنواخت بیوسیمیلار

باید یک فرایند تولید صنعتی و استراتژی کنترل تعریف شود که به طور مستمر محصول بیوسیمیلار با کیفیت بسیار مشابه محصول مرجع (RMP) تولید کند. سیستم کنترل کیفی فرایند (کنترل مواد اولیه، شرایط فرایند، آزمون‌های حین تولید و محصول نهایی) باید به نحوی برقرار باشد که یکنواختی سری ساخت‌ها تضمین گردد و نشان دهد که در آینده تولید نیز همین وضعیت حفظ خواهد شد. به این معنی که اگر امروز یک سری ساخت بیوسیمیلار شبیه مرجع بود، سری ساخت‌های سال بعد نیز (تا زمانی که فرآیند تغییری نکرده) در همین حدود خواهند بود. در نتیجه، مشخصات هدف کیفی محصول (QTPP) باید بر اساس مشخصاتی که در طول توسعه برای مرجع مشاهده شده تعیین گردد.

اطمینان از اینکه تولید در مقیاس‌تجاری می‌تواند به‌صورت **تکرارپذیر (Batch-to-Batch Reproducible)** ، محصولی در **محدوده شباهت با RMP** تولید نماید؛ به‌نحوی که **CQAs**همواره در حدود ازپیش‌تعریف‌شده باقی بمانند و هر اختلاف جزئی، فاقد **اهمیت بالینی** باشد.

۵-۳-۷- وجود پروتکل مدون برای ارزیابی شباهت

پیش از شروع مطالعات مقایسه‌ای اصلی، باید پروتکل جامعی طراحی و مکتوب شده باشد که از ابتدا تمامی جنبه‌های ارزیابی شباهت را مشخص کند.

با فراهم بودن موارد فوق، می‌توان امید داشت که مطالعه مقایسه‌ای آنالیزی (شامل داده‌های گسترده in vitro و فارماکوکینتیک انسانی) قادر باشد نشان دهد هیچ تفاوت معناداری در ساختار و سایر ویژگی‌های کیفی میان بیوسیمیلار و مرجع وجود ندارد و اثرات فارماکولوژیک کلیدی نیز هم‌ارز هستند. در این حالت اثربخشی و ایمنی مشابه را می‌توان از این شباهت استنباط کرد، بدون آن‌که حتماً نیاز به مطالعه بالینی بزرگ (مطالعهCES) باشد.

طبق راهنمای EMA باید توجه داشت که هدف از داده‌های بالینی CES، برطرف کردن عدم قطعیت‌های جزئی باقی‌مانده از مراحل قبلی (آنالیزی و غیربالینی) و تأیید عملکرد بالینی مشابه است. داده‌های بالینی نمی‌توانند تفاوت‌های اساسی در ویژگی‌های کیفی را توجیه کنند. نکته مهم این است که مطالعات اثربخشی نباید به عنوان راهی برای پوشاندن کم‌کاری‌ها در بخش کیفیت

استفاده شوند. اگر تفاوت بزرگی در کیفیت وجود دارد، اصولاً آن محصول نمی‌تواند به عنوان بیوسیمیلار پذیرفته شود مگر آن‌که با تغییرات فرایند، آن تفاوت رفع گردد.

۵-٤- پروتکل ارزیابی شباهت(Similarity Assessment Protocol)

۵-٤-۱- هدف و دامنه

در این بخش باید هدف کلی و محدوده کاربرد پروتکل به‌صورت روشن بیان شود. هدف معمولاً «اثبات شباهت کیفی، ساختاری و عملکردی بیوسیمیلار با داروی مرجع» است و دامنه شامل نام محصول، ماده مؤثره ، شکل دارویی، غلظت، مسیر تجویز و بازار هدف خواهد بود. همچنین باید مشخص شود که این پروتکل صرفاً برای ارزیابی آنالیزی و عملکردی است یا شامل داده‌های PK انسانی نیز می‌شود. در پایان این بخش، انتظار تصمیم نهایی (تعیین عبور یا عدم‌عبور از شباهت و نیاز یا عدم نیاز به‌CES) ذکر می‌گردد.

۵-۴-۲- فهرست QAs وCQAs

در این بخش فهرستی از کلیه ویژگی‌های کیفی دارو شامل ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، ساختاری و عملکردی درج می‌شود. هر ویژگی باید بر اساس میزان ارتباط آن با مکانیسم اثر(MoA) ، فارماکوکینتیک(PK) ، ایمنی و ایمونوژنیسیته، در یکی از سطوح «بحرانی، مهم ولی غیربحرانی، غیر موثر» طبقه‌بندی شود. برای هر CQA باید دلیل بحرانی‌بودن، و برای هر QA و CQA روش اندازه‌گیری و حدود پذیرش پیشنهادی به‌صورت مستند آورده شود. این فهرست مبنای طراحی آزمون‌ها و تصمیم‌های بعدی در ارزیابی شباهت است.

۵-۴-۳- روش‌های آنالیزیOrthogonal

در این بخش باید روش‌های آزمایشگاهی مورد استفاده برای بررسی هر ویژگی کیفی معرفی شوند. اصل راهنما این است که هر ویژگی بحرانی با حداقل دو روش مکمل (Orthogonal) و پیشرفته ترین (state of the art) ارزیابی شود تا اطمینان از صحت داده‌ها افزایش یابد. برای مثال، ساختار اول با Peptide Mapping وLC-MS/MS ، ساختار سوم باCD ، FTIR یاNMR ، و گلیکوزیلاسیون با HILIC-FLR و LC-MS تحلیل می‌شود. روش‌ها باید بتوانند تفاوت‌های جزئی را آشکار کنند و در صورت مشاهده اختلاف، امکان ارزیابی مجدد یا انجام آزمون عملکردی تکمیلی فراهم باشد.

۵-٤-٤- شرط و معیار شباهت برای هر ویژگی

دو مفهوم آماری کلیدی **شرط شباهت** و **معیار شباهت** پایه طراحی آزمون‌های شباهت هستند.

۵-٤-٤-۱-شرط شباهت(Similarity Condition)

شرط شباهت یعنی توصیف کیفی یا عددی محدوده‌ای که نتایج بیوسیمیلار باید در آن قرار گیرد. یک بیان مختصر از وضعیت توزیع داده‌ها است که در صورت برآورده شدن آن، می‌توان نتیجه گرفت دو محصول مشابه‌اند. به بیان فنی‌تر، شرط شباهت مشخص می‌کند که دو توزیع آماری (یکی مربوط به بیوسیمیلار و یکی مربوط به RMP) تحت چه شرایطی آن‌قدر به هم نزدیک هستند که تفاوت‌شان از نظر عملی ناچیز تلقی شود. تعیین این شرط گاهی دشوار است، چون همان‌طور که گفته شد، ارتباط کمّی مستقیم بین سطح یک CQA و عملکرد بالینی همیشه در دسترس نیست. بنابراین اغلب شرط شباهت بر مبنای شباهت توزیع‌های کیفی صرف تعریف می‌شود تا بر مبنای ملاحظات مستقیم بالینی. سند EMA تصریح می‌کند که «عملکرد نهایی بالینی نتیجه اثر چندین CQA است؛ پس شباهت باید به صورت کل‌نگر بررسی شود و نمی‌توان برای هر CQA به تنهایی یک معیار بالینی معین کرد». به این ترتیب، شرط شباهت معمولاً یک تعریف آماری/ریاضی است نه یک معیار بالینی.

مثال – شرط جمعیت درون جمعیت :برای ویژگی‌هایی که مقدار پیوسته دارند(continuous data) ، یک شرط رایج «**Population Within Population**»یا «قرارگیری یک جمعیت در دل جمعیت دیگر» است. این شرط به زبان ساده می‌گوید: «درصد معینی از نمونه‌های بیوسیمیلار برای هر ویژگی باید در محدوده‌ای قرار گیرند که درصد معینی از نمونه‌های مرجع در آن محدوده قرار گرفته‌اند.» مثلا ممکن است تعریف کنیم ٪۹۰ داده‌های بیوسیمیلار در بازه‌ای واقع شوند که ٪۹۹ داده‌های مرجع را پوشش می‌دهد. این قبیل تعریف‌ها عملاً بیان می‌کنند که توزیع بیوسیمیلار به طور کامل زیرمجموعه‌ای از توزیع مرجع است. شکل فرضی ارائه‌شده در بخش قبل نمونه‌ای از چنین شرطی بود. این روش مشکل تعیین حد تفاوت قابل‌قبول را تا حدی حل می‌کند، چون حدود قابل‌قبول مستقیماً از پراکندگی طبیعی مرجع استخراج می‌شود.

۵-٤-٤-۱-۱- سایر شروط برای انواع ویژگی‌ها

برای برخی ویژگی‌ها مثل ناخالصی‌های مرتبط با محصول (مانند تجمعات Aggregates یا قطعات پروتئینی Truncated forms)، ممکن است شرط شباهت ساده‌تر باشد: مثلاً «عدم افزایش در سطح ناخالصی X نسبت به مرجع». یعنی اگر در محصول مرجع حداکثر ٪۲ از نوعی ناخالصی وجود دارد، بیوسیمیلار نیز نباید بیش از ٪۲ از آن ناخالصی داشته باشد (ترجیحاً کمتر). این یک انتظار از پیش تعیین‌شده است و نیاز به تعریف پیچیده آماری ندارد.

برای ویژگی‌هایی مثل محتوای پروتئین یا ناخالصی‌های فرایندی (که معمولاً مقیاس اسمی یا یک استاندارد مطلق برای قبولی دارند)، شرط می‌تواند به شکل مقایسه با یک استاندارد باشد: مثلاً محتوای پروتئین محصول در ±۵٪ مقدار برچسب باشد و مشابه مرجع باشد.

برای ویژگی‌های کیفی ترتیبی یا اسمی (مثل توالی اسید آمینه که باید کاملاً یکسان باشد)، شرط شباهت بدیهی است: هیچ تفاوتی در توالی قابل قبول نیست. یا مثلاً در الگوی باندهای SDS-PAGE که مقایسه چشمی می‌شود، شرط می‌تواند این‌گونه بیان شود: «شکل کلی پروفایل مشابه باشد و باند اضافی غیرمنتظره ظاهر نشود.» راهنما اذعان دارد که برای این نوع صفات، تعریف شرط شباهت همواره صریح و عددی نیست؛ اما توصیه می‌کند شرکت‌ها در پروتکل خود شرایط پذیرش برای همه انواع QA(حتی کیفی) را از پیش توصیف کنند. به عنوان مثال: کروماتوگرام دو محصول از نظر شکل و تعداد پیک‌ها باید قابل قیاس باشد.

بنابراین شرط شباهت در حکم جمله‌ای کیفی/ریاضی است که وضعیت ایده‌آل شباهت را تعریف می‌کند. اما چگونه تصمیم بگیریم که این شرط در عمل برقرار شده یا نه؟ این‌جا مفهوم معیار شباهت مطرح می‌شود.

۵-٤-٢-٤-معیار شباهت(Similarity Criteria)

برای این‌که بفهمیم شرط شباهت برآورده شده است یا خیر، نیاز به معیار قابل‌اندازه‌گیری داریم. معیار شباهت در واقع یک شاخص آماری یا حد آستانه‌ای است که اگر داده‌های ما از آن عبور کنند، می‌توان گفت شرط شباهت حاصل شده است. انتخاب معیار مناسب خود یک کار علمی مهم است و باید با توجه به ماهیت داده و اهمیت آن صفت کیفی انجام شود.

۵-٤-٢-٤-١- ویژگی‌های معیار شباهت

- معیار باید تا حد ممکن از داده‌ها و دانش موجود استخراج شود. برای مثال، اگر پراکندگی طبیعی RMP را می‌دانیم، معیار باید آن را در نظر بگیرد. یا اگر می‌دانیم تفاوت ۱۰٪ در قدرت یک محصول تأثیر بالینی ندارد، می‌توان معیار را ±۱۰٪ در نظر گرفت.
- معیار باید هم واریانس سری ساخت‌های مرجع و هم واریانس سری ساخت‌های بیوسیمیلار را لحاظ کند. مثلاً اگر هر دو پراکندگی کمی دارند، معیار می‌تواند سخت‌گیرانه‌تر باشد، اما اگر ذاتاً پراکندگی بالا است، معیار باید آن را منعکس کند.

۵-۴-۴-۲-۲- انواع معیارهای شباهت

در روش‌های آماری، چندین رویکرد برای تعیین معیار شباهت موجود است و EMA/ICH هیچ روش واحدی را الزام نکرده‌اند؛ اما برخی مثال‌ها رایج شده‌اند:

- **آزمون معادلی (Equivalence Test)** : در این روش، حدودی برای تفاوت قابل قبول تعیین می‌شود و با آزمون‌های آماری (مانند آزمون t یا محاسبه فاصله اطمینان) بررسی می‌شود که تفاوت میانگین دو جمعیت در آن حدود قرار دارد یا خیر، FDA این روش را برای Tier 1 (ویژگی‌های بسیار بحرانی) توصیه کرده است. مثلاً ممکن است معیار تعیین شود: «فاصله اطمینان ٪۹۰ نسبت میانگین قدرت بیوسیمیلار به میانگین مرجع باید بین ۰٫۸ تا ۱٫۲۵ باشد». اگر داده‌های ما این شرط را تامین کنند، نتیجه می‌گیریم شباهت برقرار است.
- **روش محدوده کیفیت (Quality Range)** : این روش مطابق همان مفهوم «جمعیت درون جمعیت» تعریف می‌شود. به طور مثال: ٪۹۰ داده‌های بیوسیمیلار باید در بازه میانگین مرجع ± ۳ SD مرجع قرار گیرند، FDA این رویکرد را به عنوان Tier 2 (ویژگی‌های با اهمیت متوسط) به کار می‌برد.
- **روش‌های توزیعی دیگر**: استفاده از مقایسه فاصله اطمینان برای واریانس‌ها، یا روش‌های مبتنی بر بیز (Bayes) نیز ممکن است. برخی پژوهش‌ها از حدود تحمل (Tolerance Interval) استفاده می‌کنند (مثلاً بازه‌ای که ٪۹۹ داده‌های مرجع با اطمینان ٪۹۵ در آن قرار می‌گیرد). نکته این‌جاست که EMA در جزئیات این موارد ورود نکرده و انتخاب هر روش را به توسعه‌دهنده واگذار کرده است، به شرط آن‌که با استدلال علمی توجیه شود.

به طور خلاصه، شرکت باید از قبل معیار پذیرش برای هر CQA را تعریف کند و در پرونده ثبت محصول ذکر نماید. سپس نتایج آزمایش‌ها بررسی شوند که آیا این معیارها برآورده شده‌اند یا خیر.

مثال عددی : فرض کنیم برای یک بیوسیمیلار هورمون رشد، قدرت بیولوژیک محصول مرجع ۱۰۰ واحد با انحراف معیار ۵ واحد است. تیم توسعه شرط شباهت را «عدم تفاوت معنادار در قدرت اثر» تعریف می‌کند. معیار را تعیین می‌کند: «فاصله اطمینان ٪۹۵ نسبت میانگین قدرت بیوسیمیلار به مرجع باید در بازه ۰٫۹ تا ۱٫۱ قرار گیرد». اگر آزمایش‌ها نشان داد میانگین قدرت بیوسیمیلار ۹۸ واحد است و فاصله اطمینان ٪۹۵ نسبت این میانگین به ۱۰۰ در بازه ۰٫۹۵ تا ۱٫۰۲ قرار گرفت (که کاملاً در محدوده ۰٫۹–۱٫۱ است)، نتیجه می‌گیریم معیار شباهت تامین شده و این CQA مشابه است. در غیر اینصورت، یا باید تفاوت با استدلال دیگری توجیه شود یا پروژه شکست خورده محسوب گردد.

عنوان	راهنمای مطالعات ثبت بیوسیمیلار		
شماره	GUI-DPNA-BIO-013	تاریخ شروع اجراء	۱۴۰۴/۱۱/۲۰
شماره بازنگری	00	تاریخ اعتبار	-

۵-۴-۵- طراحی و تعداد سری ساخت‌ها (RMP و Biosimilar)

برای داروی مرجع (RMP) باید حداقل ۱۰ سری ساخت مستقل از تاریخ‌های مختلف تولید انتخاب شود تا محدوده تغییرپذیری طبیعی آن مشخص گردد. هر چه تنوع ذاتی و واریانس صفات بیشتر باشد، به تعداد بیشتری سری ساخت نیاز است. سری ساخت‌های مرجع باید تحت شرایط توصیه‌شده نگهداری شوند و در طول عمر قفسه‌ای (shelf-life) آزمون شوند.

برای بیوسیمیلار حداقل ۱۰ سری ساخت پایلوت، مشروط به هم‌فرایند بودن با تولید صنعتی، کافی است. استفاده از سری ساخت‌های پایلوت با فرآیند مشابه به‌جای سری ساخت‌های تجاری مجاز است، مشروط بر آنکه فرآیند، تجهیزات و مواد اولیه مشابه باشند. در پایان باید حجم نمونه‌گیری (معمولاً حداکثر ۱۰٪ حجم هر سری ساخت) و روش اطمینان از نمایندگی کل سری ساخت توصیف شود.

۵-۴-۶- برنامه اعتبارسنجی روش‌ها

این بخش شامل مستندات اعتبارسنجی تمامی روش‌های آزمایشگاهی (فیزیکوشیمیایی و زیستی) است. (مثلاً آیا روش طبق استانداردهای GLP/GMP تأیید شده است.) برای هر روش باید ویژگی‌هایی مانند صحت، دقت، تکرارپذیری، حساسیت (LOD/LOQ)، محدوده اندازه‌گیری، پایداری و گزینش‌پذیری مشخص شود.

همچنین باید فهرست آزمون‌های زیستی in vitro که انجام خواهد شد (مانند انواع بیوآسی‌ها: آزمون اتصال، آزمون عملکرد سلولی، سنجش قدرت اثر) ارائه شود. برای آزمون‌های زیستی و سلولی، ارزیابی موازی‌بودن (Parallelism) منحنی‌ها و کفایت کنترل‌های مثبت و منفی الزامی است.

اطمینان از کفایت System Suitability پیش از هر نوبت آزمون نیز باید در پروتکل ثبت گردد.

۵-۴-۷- طرح آماری و کنترل چندگانگی

باید نوع داده (پیوسته، رتبه‌ای یا اسمی)، آزمون آماری انتخاب‌شده (مثلاً Two One-Sided Test یا Student t-test)، سطح اطمینان (Confidence Interval) و سطح خطا (α و β) مشخص گردد، در صورت وجود آزمون‌های متعدد برای ویژگی‌های مختلف، باید روش کنترل چندگانگی (مثل Bonferroni یا Holm) بیان شود تا از افزایش خطای نوع اول جلوگیری شود، همچنین باید سیاست برخورد با داده‌های خارج محدوده (Outliers) و تحلیل حساسیت (Sensitivity Analysis) از پیش تعیین گردد.

۸-۴-۵- تحلیل ریسک تفاوت‌ها

در این بخش، نحوه برخورد با اختلاف‌های احتمالی بین بیوسیمیلار و RMP توضیح داده می‌شود، هر اختلاف مشاهده‌شده باید از نظر منشاء (فرآیندی، آنالیزی یا محصولی) بررسی شود و اثر بالقوه آن بر ایمنی، اثربخشی یا فارماکوکینتیک ارزیابی گردد. در صورت بی‌اهمیت بودن تفاوت، توجیه علمی و عملکردی کافی است؛ در غیر این صورت باید اقدامات اصلاحی یا آزمون‌های تکمیلی (مانندFunctional Test ، اصلاح فرآیند یا مطالعه PK انسانی محدود) طراحی گردد، همچنین لازم است مسئول تصمیم‌گیری نهایی و معیار پذیرش تفاوت‌ها در این بخش تعریف شود.

۹-۴-۵- توجیه انتخاب رویکرد بالینی(Tailored Clinical Approach)

اگر قرار است رویکرد بالینی کاهش‌یافته (بدون انجام مطالعه بالینی اثربخشی یاCES) اتخاذ شود، باید در پروتکل توضیح داده شود چرا این امر از نظر علمی قابل قبول است. به عبارتی استدلال شود که بر اساس دانش حاضر، نشان دادن شباهت درCQA ها تضمین می‌کند عملکرد بالینی یکسان خواهد بود. این بحث باید رگولاتور (IRFDA) را قانع کند که عدم انجام CES لطمه‌ای به اثبات اثربخشی/ایمنی نمی‌زند.

ارائه توجیه علمی برای حذف

در صورتی که متقاضی پیشنهاد حذف مطالعه بالینی مقایسه‌ای را مطرح نماید، موظف است توجیه علمی مستند (Scientific Justification) ارائه کند که در آن نشان داده شود عدم‌قطعیت‌های باقیمانده از طریق ارزیابی آنالیزی تطبیقی، مطالعه PK انسانی و ارزیابی ایمونوژنیسیته به‌طور کافی برطرف شده‌اند و داده‌های موجود برای نتیجه‌گیری درباره نبود تفاوت بالینی معنادار کفایت دارد.

۵-۴-۱۰- گزارش انحرافات و تصمیم عبور/عدم عبور

در پایان پروتکل، باید فرآیند ثبت، تحلیل و تصمیم‌گیری در مورد انحرافات (Deviation) و نتایج آزمون‌ها بیان شود، هر انحراف باید مستندسازی و طبقه‌بندی شود (جزئی، عمده، بحرانی) و اقدامات اصلاحی و پیشگیرانه (CAPA) تعریف گردد، سپس برای هر ویژگی کیفی، نتیجه نهایی در قالب تصمیم عبور (Pass) یا عدم عبور (Fail) همراه با منطق علمی ثبت می‌شود. در مواردی که اختلاف معنادار مشاهده می‌شود، مسیر تصمیم باید مشخص باشد، مانند انجام مطالعه عملکردی هدفمند، اصلاح فرایند، یا در نهایت اجرای CES محدود برای رفع عدم‌قطعیت.

۵-۵- سری ساخت‌های مورد استفاده در ارزیابی شباهت (Batches to be Included in the Similarity Assessment)

یکی از مهم‌ترین پرسش‌ها در طراحی مطالعه شباهت این است: چند سری ساخت و کدام سری ساخت‌ها از هر محصول باید با هم مقایسه شوند؟ تصمیم‌گیری در این باره باید طوری باشد که نماینده تنوع واقعی هر دو محصول باشد.

۱-۵-۵- سری ساخت‌های محصول مرجع (RMP)

نتیجه‌گیری درباره شباهت اساساً باید بر مقایسه با سری ساخت‌های تولیدشده محصول مرجع در مقیاس تجاری استوار باشد. تجربه ی فعلی برای محصولات شناخته شده نشان داده برای اغلب محصولات زیستی، حداقل ۱۰ سری ساخت مختلف از RMP عددی مناسب است که هم تغییرپذیری بین‌سری ساختی محصول مرجع را پوشش می‌دهد و هم امکان تحلیل آماری فراهم می‌کند. انتخاب دقیق تعداد سری ساخت‌ها بسته به ویژگی‌های محصول است؛ مثلاً هرچه پراکندگی ویژگی‌های مرجع بیشتر باشد یا آزمون‌ها حساس‌تر باشند، برای اطمینان از هم‌پوشانی توزیع‌ها، به تعداد بیشتری سری ساخت نیاز است. همچنین استقلال سری ساخت‌ها مهم است (توجه شود که سری ساخت‌های مرجع باید در شرایط نگهداری توصیه‌شده (دما، نور و غیره) انبار شوند و پیش از انقضا مورد آزمون قرار گیرند. حتی توصیه می‌شود دوره نمونه‌برداری طولانی شود تا هرگونه تغییر احتمالی تدریجی در ویژگی‌های مرجع (drift) در طول زمان نیز آشکار گردد. به بیان دیگر، اگر محصول مرجع طی سالیان اندکی تغییرات نامحسوسی در مشخصات داشته باشد، نمونه‌گیری سری ساخت‌های مربوط به سال‌های مختلف آن را نشان خواهد داد.

۱-۱-۵-۵-حفظ نمونه‌های مرجع از طریق انجماد

از آنجا که تهیه تعداد زیادی سری ساخت مرجع گاهی چالش‌برانگیز است، برخی شرکت‌ها روش فریز کردن نمونه‌های مرجع را به کار برده‌اند تا بتوانند نمونه‌های یک سری ساخت را در طول زمان چند بار مورد آزمون قرار دهند، EMA ذکر کرده که این کار قابل قبول است به شرط آن‌که داده کافی ارائه شود مبنی بر اینکه فرایند انجماد/یخزدایی روی ویژگی‌های کیفی اثر ندارد. به بیان دیگر، باید نشان داده شود که مثلاً محتوای پروتئین، ساختار و سایر خصوصیات یک سری ساخت مرجع پس از یک نوبت فریز و دیفریز تغییری نمی‌کند. اگر چنین داده‌ای ارائه گردد، می‌توان نمونه‌های مرجع را ذخیره کرد و در بازه‌های زمانی مختلف استفاده نمود تا مصرف تعداد زیادی ویال تجاری کاهش یابد.

عنوان	راهنمای مطالعات ثبت بیوسیمیلار		
شماره	GUI-DPNA-BIO-013	تاریخ شروع اجراء	۱۴۰۴/۱۱/۲۰
شماره بازنگری	00	تاریخ اعتبار	-

۲-۵-۵- سری ساخت‌های محصول بیوسیمیلار

تمام سری ساخت‌های مقیاس صنعتی که در مراحل توسعه ساخته شده‌اند باید در ارزیابی گنجانده شوند. این شامل سری ساخت‌های تولید نهایی (مقیاس تجاری) و همچنین سری ساخت‌هایی که برای مطالعات بالینی PK/PD استفاده شده‌اند می‌شود. علت این است که باید مطمئن شد سری ساختی که در مطالعه بالینی به بیمار تزریق شده، با سری ساخت‌های دیگر محصول مطابقت داشته و تفاوتی نداشته است. اگر طی توسعه، سری ساخت‌های آزمایشی در مقیاس کوچک‌تر ساخته شده‌اند، می‌توان آن‌ها را نیز مقایسه کرد مشروط به این‌که هم‌خوانی کاملشان با فرایند تولید نهایی ثابت شده باشدEMA هشدار می‌دهد که استفاده از سری ساخت‌های توسعه که شرایط ساخت متفاوتی داشته‌اند می‌تواند عدم قطعیت وارد کند و بهتر است تنها در صورتی وارد مقایسه شوند که مطابقت کامل آن‌ها با سری ساخت تجاری اثبات گردد. به طور خلاصه، هر سری ساخت بیوسیمیلار که وارد مطالعه می‌شود باید نماینده فرایند نهایی تولید باشد.

با اتخاذ چنین رویکردی، عدم قطعیت‌های ناشی از نمونه‌گیری محدود کاهش می‌یابد. هدف این است که پس از آزمون این مجموعه سری ساخت‌ها بتوان با اطمینان گفت: "کیفیت محصول بیوسیمیلار در چارچوب تغییرات طبیعی کیفیت محصول مرجع قرار می‌گیرد".

۵-۶- ملاحظات آنالیزی(Analytical Considerations)

در مقایسه ویژگی‌های کیفی، کیفیت ابزارها و روش‌های آنالیزی نقش تعیین‌کننده دارد. این بخش یادآوری می‌کند که باید از بهترین روش‌های موجود استفاده شود و نکاتی را در اجرای آزمون‌های مقایسه‌ای بیان می‌کند:

۵-۶-۱- روش‌های پیشرفته و هم‌راستا

روش‌های آنالیزی که استفاده می‌شوند باید به‌روز، دقیق و ترجیحاً **Orthogonal** (مستقل و مکمل یکدیگر) باشند. از جمله:

- استفاده از روش‌های مکمل برای ساختار مرتبه بالاتر (CD، FTIR، NMR).
- تحلیل واریانت‌های باردار (CEX-HPLC، cIEF) و اندازه(SEC-MALS) .
- ارزیابی گلیکوزیلاسیون (Afucosylation، High-Mannose، Sialylation).
- ارزیابی فعالیت زیستی(Binding and Cell-based assays Fc function(ADCC. CDC FcRn)) .
- بررسی ناخالصی‌ها و تجمعات (Host Cell Proteins/DNA، Aggregates).

- تحلیل پایداری در شرایط واقعی و تسریع‌شده طبق ICH Q1A/B.

برای هر خصوصیت، بهتر است بیش از یک روش با اصول فیزیکی متفاوت به کار رود تا نتایج یکدیگر را تأیید کنند، EMA اشاره می‌کند که برخی رویه‌های قدیمی مانند آزمایش هم‌زمان نمونه مرجع و نمونه آزمایشی در یک ران (side-by-side testing) که زمانی اجباری بودند، امروزه با وجود دستگاه‌های بسیار دقیق، دیگر لزوم سابق را ندارند. زیرا روش‌های مدرن دقت بالا و واریانس روزانه کمی دارند که با واریانس بین‌روزی قابل مقایسه است؛ لذا می‌توان نتایج را حتی اگر در روزهای جداگانه انجام شده باشند، با هم مقایسه کرد. البته اگر روشی واریانس بین‌ران بالایی دارد (مثلاً برخی تست‌های پیچیده بیوفیزیکی مانند SPR تحت شرایط خاص)، آنگاه انجام آزمون‌ها به‌صورت side-by-side (در یک سری) می‌تواند مفید باشد.

۲-۶-۵- گنجاندن آزمون‌های عملکردی (فارماکولوژی In Vitro)

علاوه بر ویژگی‌های صرفاً فیزیکوشیمیایی، انتظار می‌رود آزمون‌های عملکردی مرتبط و افتراق‌دهنده نیز انجام شوند. برای مثال، آزمون اتصال به رسپتور هدف، آزمون فعال‌سازی سلولی یا سنجش اثر بیولوژیک (potency) باید وجود داشته باشد. این آزمون‌ها دو فایده عمده دارند:

۱) کمک به شناسایی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی بحرانی (مثلاً اگر تفاوتی در یک نوع گلیکوزیلاسیون مشاهده شد، آیا در آزمون اتصال هم اثر می‌گذارد؟)

۲) ارائه داده مقایسه‌ای بیولوژیک بین بیوسیمیلار و مرجع. اگر فارماکولوژی in vitro هر دو محصول یکسان باشد، قویاً نشان می‌دهد فعالیت زیستی و در نتیجه فعالیت درمانی آن‌ها یکی است. این داده‌ها می‌توانند طیف وسیعی داشته باشند: سنجش قدرت اثر، بررسی رابطه دوز-پاسخ، اتصال به اهداف اصلی، و حتی اتصال به گیرنده‌های فرعی مرتبط با فارماکوکینتیک (مثلاً گیرنده FcRn برای آنتی‌بادی‌ها که بر نیمه‌عمر آن‌ها تأثیر دارد).

۵-۶-۳- یکنواختی روش‌ها در طول توسعه

ممکن است در طول توسعه، روش‌های آنالیتیک تغییر یا بهبود یابند (مثلاً نسخه جدید دستگاه معرفی شود یا روش جایگزین دقیق‌تری به کار گرفته شود). سند EMA یادآور می‌شود که باید نتایج روش قدیمی با روش جدید قابل تطبیق باشند. اگر لازم باشد، باید برخی سری ساخت‌ها دوباره با روش نهایی اندازه‌گیری شوند یا ارتباط نتایج قدیم و جدید با آزمایش‌های مقایسه‌ای

عنوان	راهنمای مطالعات ثبت بیوسیمیلار		
شماره	GUI-DPNA-BIO-013	تاریخ شروع اجراء	۱۴۰۴/۱۱/۲۰
شماره بازنگری	00	تاریخ اعتبار	-

تعیین گردد. در نهایت، تمام داده‌های ارائه‌شده در پرونده باید قابل‌اعتماد و قابل‌قیاس باشند و تغییر روش‌ها نباید مانع تفسیر درست شباهت شود.

۵-۶-٤- تفکیک تفاوت واقعی از خطای روش

نکته بسیار مهم دیگر این است که دقت و صحت روش‌های اندازه‌گیری باید به حدی بالا باشد که هر تفاوت مشاهده‌شده واقعاً ناشی از تفاوت بین نمونه‌ها باشد نه ناشی از خطای روش. اگر یک دستگاه خطای اندازه‌گیری بزرگی دارد، ممکن است تفاوت ۵٪ بین دو نمونه صرفاً ناشی از واریانس روش باشد. بنابراین در گزینش روش‌ها، آن‌هایی انتخاب شوند که کمترین انحراف معیار و خطای سیستماتیک را دارند. همچنین هرجا اختلافی دیده شد، ابتدا باید مطمئن شویم از نظر آماری و با در نظر گرفتن خطای روش، اختلاف معنادار است یا خیر.

۵-۷- ابهامات در ارزیابی شباهت(Uncertainties in the Similarity Assessment)

در این بخش EMA حوزه‌هایی را مطرح می‌کند که حتی پس از یک مطالعه آنالیزی قوی، هنوز ممکن است عدم قطعیت (Residual Uncertainty)باقی بماند. به عبارت دیگر، کدام تفاوت‌های مشاهده‌شده یا جنبه‌ها ممکن است ما را در مشابهت کامل مردد کند و نیاز به بررسی بیشتر (احیاناً انجام مطالعات اضافی) داشته باشد. چند زیرمجموعه مهم ذکر شده که تجربه نشان داده منابع معمول تفاوت یا چالش در پرونده‌های بیوسیمیلار هستند:

۵-۷-۱- ساختار اولیه و ساختار مرتبه‌بالا

اثبات مشابهت ساختاری مولکول بیوسیمیلار با مرجع از ضروری‌ترین بخش‌هاست، به‌ویژه برای اطمینان از این‌که دارو به همان گیرنده هدف مورد نظر اتصال اختصاصی دارد. ساختار اولیه (توالی اسید آمینه) باید کاملاً یکسان باشد؛ در غیر این صورت محصول اصولاً بیوسیمیلار محسوب نمی‌شود. ساختارهای ثانویه و سوم تا جایی که با تکنیک‌هایی مانندCD ، FTIR، DSC و سایر روش‌ها قابل اندازه‌گیری هستند نیز باید قابل قیاس باشند. اگر اختلاف قابل‌توجهی مثلاً در الگوی تاخوردگی پروتئین مشاهده شود، یک علامت خطر مهم است، EMA تأکید می‌کند بدون تأیید ساختار مشابه، نمی‌توان انتظار داشت برهم‌کنش دارو-رسپتور مشابه باشد.

از آنجا که تکنیک‌های اندازه‌گیری ساختار سه‌بعدی غیرمستقیم‌اند (مثل تحلیل پیوندهای دی‌سولفیدی، طیف‌سنجی‌ها، یا حتی اتکا بر آزمون‌های عملکردی به عنوان نماینده ساختار)، هر گونه ابهام در این قسمت معمولاً منجر به درخواست داده‌های بیشتر

عنوان	راهنمای مطالعات ثبت بیوسیمیلار		
شماره	GUI-DPNA-BIO-013	تاریخ شروع اجراء	۱۴۰۴/۱۱/۲۰
شماره بازنگری	00	تاریخ اعتبار	-

می‌شود. اگر ساختار مولکول به‌طور کامل مشخص نباشد یا نشانگرهای کافی برای یکسانی ارائه نشود، ممکن است نهاد ناظری احساس کند بدون **مطالعه اثربخشی بالینی (CES)** نمی‌توان ریسک تفاوت را پذیرفت؛ زیرا شاید تفاوتی نامرئی در ساختار وجود داشته باشد که بر اثربخشی یا ایمنی اثر بگذارد. بنابراین مشابهت کامل در توالی و تاخوردگی مولکول کلیدی است. تفاوت‌های جزئی – مثلاً درصدی از یک ایزومر فضایی یا یک واریانت ساختاری – اگر در عملکرد in vitro اثر نداشته و در محدوده مرجع باشند، قابل قبول‌اند؛ در غیر این صورت باید در همین مرحله متوقف شد یا داده‌های تکمیلی ارائه گردد.

۲-۷-۵- محتوای پروتئین

غلظت یا محتوای پروتئین در فرآورده یکی از عوامل به ظاهر ساده ولی بسیار مهم است EMA .یادآور می‌شود سری ساخت یا سری ساخت‌هایی از بیوسیمیلار که در مطالعه بالینی فارماکوکینتیک (PK) استفاده می‌شوند، باید از نظر غلظت و محتوای پروتئین با محصول مرجع هم‌خوانی داشته باشند. دلیل این امر واضح است: اگر مثلاً ویال بیوسیمیلار عملاً ٪۱۰ ماده مؤثره کمتر یا بیشتر داشته باشد، نتایج PK (مانندCmax) به اشتباه متفاوت خواهد شد که ربطی به خود مولکول ندارد بلکه صرفاً ناشی از تفاوت دوز تزریق‌شده است. پس باید اطمینان حاصل کرد دوز مؤثر تحویلی یکسان است. این نکات فنی مانند اطمینان از دقت روش سنجش پروتئین و عدم تفاوت معنادار در حجم پرشده در ویال‌ها بسیار اهمیت دارد. تفاوت‌های اندک (در حد ٪۵±) معمولاً قابل چشم‌پوشی یا از لحاظ بالینی خنثی‌اند، اما اگر اختلاف غلظت فرمولاسیون بیشتر باشد، شاید نیاز به تنظیم دوز یا انجام یک مطالعه PK اضافی برای اثبات هم‌ارزی دوز باشد.

۳-۷-۵- فعالیت بیولوژیک

قدرت و فعالیت زیستی محصول، چکیده‌ای از اثر کل ساختار مولکول است، EMA تأکید می‌کند «اثبات فعالیت زیستی قابل مقایسه از اهمیت بحرانی برخوردار است». اگر یکی از سری ساخت‌های بیوسیمیلار نتواند معیار شباهت را در آزمون فعالیت زیستی (مثلاً **قدرت اثربخشی سلولی**)کسب کند، نمی‌توان نتیجه‌گیری کرد که محصول به طور کلی مشابه است. چنین وضعیتی یا نشان‌دهنده یک تفاوت ساختاری مهم است یا مشکل در پایداری/فرآوری محصول. در برخی پرونده‌ها مشاهده شده که فعالیت in vitro بیوسیمیلار کمی پایین‌تر بوده اما شرکت تولیدکننده با افزایش دوز در بالین توانسته اثر را نشان دهد؛ ولی رویکرد امروزی این است که نباید هیچ تفاوت معناداری در potency مشاهده شود. اگر مشاهده شد، راه‌حل اصولی اصلاح فرآیند و افزایش شباهت است، نه این‌که سریعاً به سراغ مطالعه CES برویم. تنها در صورتی که علی‌رغم تمام تلاش‌ها تفاوت اندکی باقی بماند، آنگاه شاید مطالعات تکمیلی in vivo یا بالینی برای بررسی اثر آن تفاوت لازم شود.

۴-۷-۵- الگوی بار الکتریکی(Charge Variants)

مولکول‌های پروتئینی معمولاً مخلوطی از گونه‌های باردار (ایزوفرم‌های ایزوالکتریک) هستند که ناشی از فرآیندهای پس از ترجمه مانند دآمیداسیون، سیالیلاسیون و غیره است. EMA اشاره می‌کند که تفاوت‌هایی در پروفایل بار الکتریکی میان بیوسیمیلار و مرجع غیرمعمول نیست، چرا که عوامل زیادی می‌تواند بر آن اثر بگذارد. اما سؤال مهم این است: آیا این تفاوت معنی‌دار است؟ مثلاً اگر بیوسیمیلار درصد ایزوفرم بازی بیشتری دارد، آیا روی فعالیت یا پایداری محصول اثر می‌گذارد؟ غالباً، تا زمانی که این ایزوفرم‌ها در محدوده مشاهده‌شده برای مرجع باشند، قابل قبول است. حتی محصول مرجع گاهی بین سری ساخت‌ها در نسبت ایزوفرم‌ها اختلاف دارد. اما اگر بیوسیمیلار یک پیک کاملاً جدید در پروفایل شارژ نشان دهد یا سهم یک ایزوفرم خارج از محدوده مرجع باشد، باید بررسی شود که آیا آن ایزوفرم جدید خاصیتی نامطلوب (مثلاً تمایل به تجمع یا پاکسازی سریع‌تر) دارد یا خیر. اگر بله، احتمالاً بدون رفع آن تفاوت نمی‌توان جلو رفت. اگر نه (مثلاً نشان داده شود آن ایزوفرم اثر خاصی ندارد و در مرجع هم وجود داشته ولی کم بوده)، شاید قابل اغماض باشد. به طور کلی، تفاوت در ایزوفرم‌های باردار باید با داده‌های تکمیلی (مثلاً اثبات عدم اثر بر عملکرد یاPK) توجیه شود.

۵-۷-۵- گلیکوزیلاسیون

تفاوت در الگوهای **گلیکوزیلاسیون** از چالش‌برانگیزترین موارد در توسعه بیوسیمیلارها است، EMA صراحتاً بیان کرده: «بر اساس تجربه تاکنون، توجیه تفاوت در گلیکوزیلاسیون بین بیوسیمیلار و مرجع می‌تواند دشوار باشد». علت این است که قندهای متصل به پروتئین می‌توانند روی چندین مورد اثر بگذارند: نیمه‌عمر گردش خون (از طریق گیرنده‌های پاک‌سازی مانند گیرنده‌های گلیکان‌شناس)، ایمنی‌زایی (مثلاً حضور یا عدم حضور آنتی‌ژن‌های قندی ایمنی‌زا)، و حتی فعالیت بیولوژیک مثلاً برخی آنتی‌بادی‌ها اگر فاقد گلیکوزیلاسیون کامل باشند عملکرد Fc آن‌ها مختل می‌شود، بنابراین اگر الگوی گلیکانی بیوسیمیلار به طور واضح با مرجع فرق داشته باشد، نهاد ناظر بسیار سخت‌گیر خواهد شد. البته تفاوت جزئی قابل قبول است: مثلاً درصد کمی تفاوت در یک گونه گلیکان که مشخص شده اثر قابل توجهی ندارد. اما تفاوت‌های عمده (مثل نبودن یک نوع گلیکوزیلاسیون مهم که مرجع دارد، یا وجود یک قند غیربومی و ناآشنا) غالباً غیرقابل قبول هستند و یا باید با یک مطالعه بالینی (اثربخشی/ایمنی) اثرشان بررسی شود. برای نمونه، اگر محصول مرجع فاقد یک آنتی‌ژن قندی ایمونوژنیک خاص در گلیکان‌ها است ولی بیوسیمیلار آن آنتی‌ژن را دارد، احتمالاً نیاز به آزمون‌های اضافی ایمنی‌زایی یا حتی مطالعه CES خواهد بود. پیام کلیدی این است که تلاش کنید الگوی گلیکانی را تا حد امکان مشابه نگه دارید، چرا که هر اختلاف در اینجا به دشواری قابل استدلال و چشم‌پوشی است.

عنوان	راهنمای مطالعات ثبت بیوسیمیلار		
شماره	GUI-DPNA-BIO-013	تاریخ شروع اجراء	۱۴۰۴/۱۱/۲۰
شماره بازنگری	00	تاریخ اعتبار	-

۶-۷-۵- ناخالصی‌ها

محصولات زیستی علاوه بر ماده موثره اصلی، حاوی انواع ناخالصی‌ها هستند (ناخالصی‌های مرتبط با محصول مانند پروتئین‌های تخریب‌شده یا تجمع‌یافته، و ناخالصی‌های فرایندی مانند پروتئین‌های سلولی باقی‌مانده)، تفاوت در سطح ناخالصی‌ها می‌تواند پیامد داشته باشد: برای مثال تجمعات پروتئین (aggregates) اگر در بیوسیمیلار بیش از مرجع باشد، ریسک ایمنی‌زایی آنتی‌ژنی را افزایش می‌دهد. بنابراین اگر مشاهده شود درصد تجمعات یا قطعات تخریب‌شده پروتئین در بیوسیمیلار بالاتر است، معمولاً قابل قبول نیست. شرکت باید یا فرآیند را بهبود دهد یا نشان دهد این تفاوت در محدوده امن و بی‌اثر است. همچنین ناخالصی‌های فرایندی مثل بقایای DNA میزبان، پروتئین‌های میزبان، بقایای مواد مصرفی فرایند طبق استانداردهای ICH باید زیر حد مشخصی باشند. اگرچه این‌ها در محصول مرجع و بیوسیمیلار می‌توانند متفاوت باشند (چون فرآیند ساخت فرق دارد)، اما باید هر دو زیر حد مجاز و ترجیحاً در یک مرتبه بزرگی باشند. در مجموع، EMA انتظار دارد بیوسیمیلار ناخالصی بیشتری نسبت به مرجع نداشته باشد؛ برابر یا کمتر بودن میزان ناخالصی‌ها ایده‌آل است. در غیر این صورت، ممکن است مطالعات تکمیلی (مثلاً آزمون‌های اختصاصی ایمنی‌زایی) لازم شود یا محصول به کلی رد شود.

۷-۷-۵- جمع‌بندی بخش ابهامات

هدف از مرور موارد بالا این است که هیچ تفاوت مهمی از قلم نیفتد. باید از خود بپرسد: آیا هنوز جنبه‌ای از کیفیت محصول باقی مانده که نگران‌کننده باشد؟ اگر بله، آیا با داده‌های آنالیزی بیشتر (in vitroیا شاید مطالعات in vivo کوتاه‌مدت) می‌توان عدم قطعیت را رفع کرد یا خیر؟

مطالعه CES نباید جایگزین توسعه ناقص کیفیت شود یا برای توجیه تفاوت‌های بزرگ ویژگی‌های کیفی به کار رود.
یعنی اگر در موارد بالا مشکلی هست، ابتدا باید در بخش کیفیت و غیربالینی حل شود. تنها زمانی که تمامی کارهای ممکن را انجام دادیم و باز اندکی عدم قطعیت غیرقابل رفع باقی ماند، آنگاه مطالعه CES برای تأیید نهایی برخورد با عدم‌قطعیت‌ها مطرح می‌شود.

عنوان	راهنمای مطالعات ثبت بیوسیمیلار		
شماره	GUI-DPNA-BIO-013	تاریخ شروع اجراء	۱۴۰۴/۱۱/۲۰
شماره بازنگری	00	تاریخ اعتبار	-

۶- مطالعات انسانی، فارماکوکینتیک، ایمنی و ایمونوژنیسیته

۶-۱- اصل کلی

در بیوسیمیلارهایی که شباهت آنالیزی و عملکردی به‌خوبی اثبات شده است، ارزیابی انسانی صرفاً برای **تأیید رفتار بالینی مشابه** – **Clinical Confirmation of Similarity** – انجام می‌شود، نه برای بازتعریف اثربخشی یا ایمنی.

هدف این بند، تعیین **چارچوب حداقل مطالعات انسانی لازم** است تا تصمیم حذف یا کاهش CES علمی، ایمن و قابل دفاع باشد.

۶-۲- طراحی مطالعه فارماکوکینتیک انسانی

۶-۲-۱- طراحی و جمعیت

- طراحی متقاطع (Cross-over) یا موازی (Parallel) با داوطلبین سالم، مگر آن‌که ملاحظات ایمنی اجازه ندهد.
- جمعیت متناسب با مسیر تجویز، دوز، و نیمه‌عمر دارو انتخاب شود.
- در داروهای با اثر طولانی، طراحی تک‌دوز کافی است.

۶-۲-۲- پارامترهای اصلی

- **AUC** و **Cmax** به‌عنوان معیارهای اصلی شباهت PK .
- محدوده پذیرش آماری معمولاً **٪۸۰ تا ٪۱۲۵**، مگر توجیه علمی دیگر ارائه شود.
- داده‌ها باید از نمونه‌گیری با فاصله زمانی کافی و روش آنالیز معتبر (مثلاً LC–MS/MS) به‌دست آید.

۶-۲-۳- تطبیق محتوا

غلظت پروتئین، بافر و سورفکتانت در فرآورده بیوسیمیلار و مرجع باید یکسان و در شرایط مشابه تزریق شوند تا سوگیری حذف گردد.

عنوان	راهنمای مطالعات ثبت بیوسیمیلار		
شماره	GUI-DPNA-BIO-013	تاریخ شروع اجراء	۱۴۰۴/۱۱/۲۰
شماره بازنگری	00	تاریخ اعتبار	-

۶-۳- مطالعه فارماکودینامیک (PD) در صورت نیاز

در صورتی که شاخص PD معتبر (Validated Biomarker) وجود داشته باشد، می‌تواند به‌عنوان مکمل PK و جایگزین بخشی از CES مورد استفاده قرار گیرد. برای داروهای با شاخص‌های PD حساس (مثل G-CSF، انسولین، EPO)، ترکیب PK/PD می‌تواند کفایت شواهد را برای حذف CES اثبات کند.

۶-۴- ارزیابی ایمنی و ایمونوژنیسیته

۶-۴-۱- هدف

اثبات عدم تفاوت معنادار در بروز و شدت عوارض ناخواسته و پاسخ ایمنی

۶-۴-۲- مطالعه ایمونوژنیسیته Immunogenicity Study

- طراحی باید به‌گونه‌ای باشد که حساسیت آزمون (Assay Sensitivity) و پوشش زمانی مناسب برای تشخیص آنتی‌بادی‌های ضد دارو (ADA) و خنثی‌کننده (Nab) تضمین شود.
- روش ELISA یا Bridging Assay باید اعتبارسنجی‌شده باشد (حساسیت، اختصاصیت، ریکاوری، تداخل).

۶-۴-۳- پایش پس از ورود به بازار

در صورت حذفCES، برنامه نظارت ایمنی پس از عرضه (Pharmacovigilance) باید تقویت و مبتنی بر ریسک طراحی شود.

۷- تصمیم‌گیری نهایی، برچسب‌گذاری و تغییرات پس از ثبت

۷-۱- تصمیم‌گیری نهایی

تصمیم بر پایه **مجموع شواهد – Totality of Evidence** – اتخاذ می‌شود.

داده‌های آنالیزی و عملکردی ستون اصلی تصمیم هستند؛ داده‌های انسانی ابزار تأییدی محسوب می‌شوند.

در صورت هم‌ترازی کامل بسته کیفیت و داده‌های PK انسانی، **تأیید بدون CES** ممکن است.

عنوان	راهنمای مطالعات ثبت بیوسیمیلار		
شماره	GUI-DPNA-BIO-013	تاریخ شروع اجراء	۱۴۰۴/۱۱/۲۰
شماره بازنگری	00	تاریخ اعتبار	-

۷-۲- برچسب‌گذاری (Labelling)

- بیوسیمیلار باید همان **نام ژنریک بین‌المللی (INN)** را با داروی مرجع داشته باشد.
- محتوای برچسب باید نشان دهد که محصول بیوسیمیلار است و بر اساس مطالعات مقایسه‌ای تأیید شده است.
- اطلاعات بالینی از داروی مرجع قابل استفاده است مگر داده‌ای متناقض وجود داشته باشد.

۷-۳- تغییرات پس از ثبت (Post-Approval Changes)

- هرگونه تغییر در فرآیند تولید، مواد اولیه یا محل تولید باید تحت چارچوب **Comparability (ICH Q5E)** ارزیابی شود.
- در صورت نشان‌دادن شباهت آنالیزی و عملکردی، نیازی به مطالعات جدید انسانی نیست.
- در موارد اختلاف کیفی جدید یا ریسک ایمونوژنیسیته، انجام PK انسانی مجدد توصیه می‌شود.

۷-٤- بازنگری و به‌روزرسانی راهنما

این راهنما با توجه به تحولات علمی و رهنمودهای جدیدEMA ، WHOو FDA حداقل هر سه سال یک‌بار بازنگری می‌گردد.

۸- مطالعات in vivo

به‌طور کلی انجام مطالعات in vivo برای فرآورده‌های بیوسیمیلار در صورت تشخیص ضرورت از سوی سازمان، به‌منظور رفع عدم‌قطعیت‌های باقیمانده مطالبه خواهد شد. در این موارد، دامنه مطالعات پیشنهادی in vivo شامل فارماکوکینتیک (PK)، فارماکودینامیک (PD) و/یا ایمنی باید متناسب با نوع اطلاعات تکمیلی مورد نیاز جهت رفع عدم قطعیت ها، به‌طور شفاف و مستدل توجیه گردد.

در مواردی که نتایج مطالعات کیفی (شامل آنالیزهای ساختاری و عملکردی) و مطالعات گسترده in vitro شباهت بسیار بالای فرآورده بیوسیمیلار به فرآورده مرجع را نشان دهند، مطالعات in vivo با نظر سازمان می تواند محدود شود. تأکید می‌شود که مطالعات in vivo قادر به جبران نواقص اساسی در توسعه کیفی فرآورده یا تفاوت‌های عمده کیفی نسبت به فرآورده مرجع نبوده و نمی‌توانند جایگزین داده‌های تحلیلی ناکافی شوند.

عنوان	راهنمای مطالعات ثبت بیوسیمیلار		
شماره	GUI-DPNA-BIO-013	تاریخ شروع اجراء	۱۴۰۴/۱۱/۲۰
شماره بازنگری	00	تاریخ اعتبار	-

کلیه مطالعات in vivo می‌بایست به‌گونه‌ای طراحی شوند که حداکثر ارزش علمی حاصل گردد و هم‌زمان، با رعایت کامل اصول سه‌گانه 3Rs شامل جایگزینی (Replace)، کاهش (Reduce) و بهینه‌سازی (Refine)، مصرف حیوانات آزمایشگاهی به حداقل ممکن محدود شود. فرآورده‌های مرجع (RMP) اغلب دارای اثرات وابسته به گونه می‌باشند، بنابراین در صورت لزوم، انتخاب گونه حیوانی مرتبط از نظر فارماکولوژیک و/یا توکسیکولوژیک باید به طور علمی توجیه گردد.

در تعیین لزوم انجام و گستره مطالعات in vivo، علاوه بر موارد پیش گفت، مواردی از جمله فرمولاسیون فرآورده و استفاده از اکسیپیان های جدید، وجود مخلوطی از ناخالصی های به خوبی مشخصه یابی نشده، تفاوت عمده در سیستم بیانی، سمیت بالا و یا شاخص درمانی باریک، تجربه بالینی محدود با فرآورده مرجع، میزان شناخته بودن مکانیسمهای اثر فرآورده و ... مورد توجه خواهد بود. تصمیم نهایی در این خصوص مورد به مورد اتخاذ خواهد شد.

۹- پیوست‌ها

۹-۱- پیوست A چک‌لیست اجرایی

۹-۱-۱- کلیات

☐طبقه محصول بیولوژیک و داروی مرجع (RMP) مشخص شده است.

☐مکانیسم اثر (MoA) و مسیرهای اثر درمانی مستند شده‌اند.

☐تفاوت‌های بالقوه شناسایی و از نظر اهمیت بالینی طبقه‌بندی شده‌اند.

۹-۱-۲- شناسایی QA / CQA و تحلیل ریسک

☐فهرست QA/CQA بر اساس ارتباط با MoA و تحلیل ریسک (ICH Q9) تعیین شده است.

☐بخش‌های مسئول اثر درمانی (Binding / Effector) مشخص شده‌اند.

☐ریسک‌های ایمونوژنیسیته (گلیکوزیلاسیون، تجمع، ناخالصی‌ها) شناسایی شده‌اند.

عنوان	راهنمای مطالعات ثبت بیوسیمیلار		
شماره	GUI-DPNA-BIO-013	تاریخ شروع اجراء	۱۴۰۴/۱۱/۲۰
شماره بازنگری	00	تاریخ اعتبار	-

۹-۱-۳- ابزارها و داده‌های آنالیزی

☐روش‌های آنالیزی اورتوگونال و State of the Art در دسترس و معتبرسازی شده‌اند.

☐برای هر CQA حداقل دو روش مکمل استفاده شده است.

☐پوشش کامل: ساختار اولیه، ساختار مرتبه‌بالا، گلیکوزیلاسیون، تجمعات و ناخالصی‌ها

☐آزمون‌های عملکرد زیستی (Binding / Cell-based / Potency) انجام شده‌اند.

۹-۱-٤- داروی مرجع و تغییرپذیری طبیعی

☐ حداقل ۱۰ سری ساخت مستقل از RMP تحلیل شده است.

☐ حداقل ۱۰ سری ساخت پایلوت یا تجاری بیوسیمیلار بررسی شده است.

☐ محدوده تغییرپذیری طبیعی هر CQA با روش آماری مناسب تعیین شده است.

۹-۱-۵- قابلیت تولید بیوسیمیلار

☐ فرایند تولید صنعتی پایدار، کنترل‌شده و قابل تکرار تعریف شده است.

۹-۱-٦- پروتکل ارزیابی شباهت(Similarity Protocol)

☐ پروتکل مدون، جامع و پیش‌نگرانه تدوین و ثبت شده است.

☐ دامنه، هدف و تصمیم نهایی مورد انتظار (Pass/Fail) یا نیاز به CES مشخص است.

☐ فهرستQA/CQA ، روش‌ها، حدود پذیرش و معیارها تعریف شده‌اند.

☐ برنامه آماری، مدیریت Outlier و کنترل چندگانگی مشخص است.

☐ در صورت حذف یا کاهشCES ، توجیه علمی مستند ارائه شده است.

☐ مسیر برخورد با اختلافات (توجیه / اصلاح فرایند / آزمون تکمیلی) مشخص است.

عنوان	راهنمای مطالعات ثبت بیوسیمیلار		
شماره	GUI-DPNA-BIO-013	تاریخ شروع اجراء	۱۴۰۴/۱۱/۲۰
شماره بازنگری	00	تاریخ اعتبار	-

۹-۱-۷- معیارها و شرط شباهت

☐ Similarity Condition متناسب با نوع QA تعریف شده است.

☐ معیارهای آماری متناسب با ماهیت داده و اهمیت QA انتخاب شده‌اند.

۹-۱-۸- ارزیابی بالینی وPK/PD

☐ طرح مطالعه PK انسانی تطبیقی (Cross-over یا Parallel) تأیید شده است.

☐ شاخص‌های PK (AUC، Cmax) در محدوده ۸۰–۱۲۵٪ قرار دارند.

☐ داده‌های ایمونوژنیسیته (ADA/NAb) ارائه شده‌اند.

۹-۱-۹- پس از تأیید و چرخه عمر محصول

☐ تصمیم نهایی مبتنی بر مجموع شواهد (Totality of Evidence) اتخاذ شده است.

☐ برچسب‌گذاری با INN مشترک و توضیح بیوسیمیلار انجام شده است.

☐ برنامه Pharmacovigilance و پایش ایمونوژنیسیته فعال است.

۹-۲- پیوست B – دسته‌بندی سطح پیچیدگی محصولات زیستی

نیازمندی کلیدی	نوع محصول	سطح پیچیدگی
کفایت بسته آنالیزی و PK انسانی، حذف CES ممکن	انسولین‌ها، فاکتورهای انعقادی	پایین
نیاز به PK + PD انسانی محدود، CESقابل حذف با توجیه	G-CSF، EPO، mabهای ساده تا متوسط	متوسط
حذف CES فقط در صورت شواهد بسیار قوی کیفیت وPK	mAbهای پیچیده، پروتئین‌های فیوژن	بالا

از منظر ارزیابی بیوسیمیلار، آنتی‌بادی‌ها بر اساس **ماهیت مکانیسم اثر (MoA)** و **نقش عملکردهای Fc** به سه دسته **ساده، متوسط، پیچیده** طبقه‌بندی می‌شوند.

عنوان	راهنمای مطالعات ثبت بیوسیمیلار		
شماره	GUI-DPNA-BIO-013	تاریخ شروع اجراء	۱۴۰۴/۱۱/۲۰
شماره بازنگری	00	تاریخ اعتبار	-

۹-۲-۱- پیچیدگی پایین: (Low Complexity; Single-Mechanism / Fc-independent)

ویژگی :مکانیسم اثر واحد و مشخص (مهار مستقیم لیگاند/گیرنده)، نقش Fc در اثربخشی بالینی حداقلی یا غیرمحوری؛ حساسیت اصلی به شباهت در **Binding/Neutralization**.

پیامد برای بیوسیمیلار :

با **بسته آنالیزی قوی** + **بیوتست‌های هدف‌محور** + **PK انسانی**، حذف CES عموماً قابل‌دفاع است (در نبود اختلافCQA).

نمونه‌ها:

- **Adalimumab**ضدTNF-α
- **Bevacizumab** ضدVEGF-A
- **Ranibizumab** ضدVEGF-A ؛ نسخهFab
- **Ustekinumab** ضدIL-12/23 p40
- **Omalizumab** ضدIgE
- **Eculizumab** ضدC5
- **Denosumab** ضدRANKL
- **Secukinumab** ضدIL-17A
- **Ixekizumab** ضدIL-17A
- **Dupilumab** ضدIL-4Rα ؛ مهار سیگنالIL-4/IL-13

نکته ارزیابی:

برای این گروه، تأکید ارزیابی بر **Orthogonal Binding Assays**، سنجش **Neutralization** در سلول/سیگنالینگ، و هم‌راستایی **Potency Curve (EC50/Emax)**با داروی مرجع و نقش FcRn بر نیمه‌عمر می باشد.

۹-۲-۲- پیچیدگی متوسط: (Moderate Complexity; Fc-modulated / Multi-pathway but delineated)

ویژگی :مکانیسم اثر روشن است اما **نقش Fc یا مسیرهای ثانویه** می‌تواند به پاسخ بالینی کمک کند (مثلاً بخشی از اثر ناشی از **ADCC/CDC** یا بافت‌ویژه است).

عنوان	راهنمای مطالعات ثبت بیوسیمیلار		
شماره	GUI-DPNA-BIO-013	تاریخ شروع اجراء	۱۴۰۴/۱۱/۲۰
شماره بازنگری	00	تاریخ اعتبار	-

پیامد برای بیوسیمیلار:

بسته آنالیزی باید علاوه بر Binding/Neutralization ، **پروفایل Fc و گلیکوزیلاسیون** را هم‌راستا نشان دهد؛ **PKانسانی** ضروری، **PDمحدود/هدف‌محور** در برخی محصولات مفید است؛ حذف CES مشروط به ارائه شواهد قوی قابل طرح می باشد.

نمونه‌ها :

- **Infliximab**ضدTNF-α ؛ IgG1 با نقش Fc نسبی
- **Trastuzumab**ضدHER2 ؛ ترکیب مهار سیگنال + افکتور Fc در برخی بافت‌ها
- **Rituximab**ضدCD20 ؛ نقش ADCC/CDC قابل‌توجه اما قابل‌مدیریت در بسته آنالیزی قوی
- **Tocilizumab**ضدIL-6R
- **Natalizumab**ضدα4-integrin ؛ بافت‌هدف‌دار
- **Vedolizumab**ضدα4β7 integrin ؛ بافت‌ویژه روده

نکته ارزیابی :برای این گروه، علاوه بر آزمون‌های هدف‌محور، **FcγR binding panel**، **ADCC/CDC**(در صورت ربط بهMoA)، و **Specهای گلیکان (Afucosylation/High-mannose)** باید از پیش تعریف و هم‌راستا با RMP نگه داشته شوند. اختلاف پایدار در **Fc-effector readouts**بدون اصلاح فرایند پذیرفتنی نیست.

۳-۲-۹- پیچیدگی بالا *(High Complexity; Multi-mechanistic / Engineered / Immuno-modulatory)*

ویژگی :چند مکانیسم اثر همزمان، نقش محوری Fc-effector یا ساختارهای مهندسی‌شده(Bispecific/Fusion/ADC) ؛ حساسیت بالا به تغییرات ریز در CQAs (گلیکان، بار، HOS (Higher Order Structure).

پیامد برای بیوسیمیلار :

حذف CES به سادگی قابل‌دفاع نیست؛ معمولاً **داده انسانی (PDیا CES هدفمند)** لازم است.

نمونه‌ها :

- **Daratumumab**، **Obinutuzumab**(افکتور Fc قوی)
- **Checkpoint inhibitors: Pembrolizumab- Nivolumab- Atezolizumab** (ایمونومدولاسیون پیچیده)
- **Emicizumab**(Bispecific؛FVIIIa-mimetic)
- **Blinatumomab**(BiTE؛Bispecific T-cell engager)
- **Trastuzumab-emtansine (T-DM1)** و **Trastuzumab-Deruxtecan** سایر **ADC**ها

عنوان	راهنمای مطالعات ثبت بیوسیمیلار		
شماره	GUI-DPNA-BIO-013	تاریخ شروع اجراء	۱۴۰۴/۱۱/۲۰
شماره بازنگری	00	تاریخ اعتبار	-

نکته ارزیابی :

در این دسته، **Structure–Function mapping** باید چند وجهی باشد (HOS: HDX-MS/NMR، FcγR panels، Immune cell co-culture). حتی با هم‌خوانی آنالیزی، برای تصمیم بالینی، **داده انسانی تکمیلی** معمولاً ضروری است.

جمع بندی:

برای دسته ساده: **Binding/Neutralization Potency panel + PK انسانی** کفایت دارد؛ PD در صورت وجود بیومارکر پذیرفته‌شده توصیه می‌شود.

برای دسته متوسط: علاوه بر موارد فوق، **Fc-function battery**(FcγRIIa/IIIa، ADCC/CDC/ADCP) و **Specهای گلیکان** باید هم‌راستا با RMP بررسی شوند.

برای دسته پیچیده :**طراحی بالینی متناسب (PK/PDهدفمند)** از ابتدا پیش‌بینی شود؛ اتکای صرف به تحلیل کیفی پذیرفتنی نیست و در صورت نیاز CES بایستی کاملاً انجام گردد.

۹-۳- پیوست C مطالعات ارزیابی کیفی

۹-۳-۱- مطالعات ارزیابی کیفی مولکول بیوسیمیلار به صورت جدول زیر است

Category	Quality Attribute	Methods	Purpose / Description
Physicochemical properties	Molecular Weight or Size	• Orbitrap MS • Quadrupole TOF MS • MALDI TOF • Reduced&Nonreduced SDS-PAGE (Silver and Coomassie staining) • Reduced/Nonreduced ESI-MS • SEC-MALLS • LC/MS	Determine molecular weight, purity, aggregation (HMWS), and size distribution.
	Molar Absorptivity (Extinction coefficient) & Spectroscopic profiles	• Amino Acid Analyzer • UV-Vis spectroscopy	Determine protein concentration and spectroscopic properties.
	Isoforms Pattern & pI	• cIEF • iCIEF • IEF • 2D-GEL (IEF/SDS-PAGE)	Evaluate charge isoform pattern and isoelectric point (pI).
Primary structure	Amino Acid Sequence	• ESI-MS analysis • MALDI-TOF MS • Peptide Mapping with RP-UPLC analyzed by LC/MS & LC/MS/MS • Edman Degradation with LC-MS/MS • Reduced RP-HPLC-UV peptide mapping	Confirm amino acid sequence and detect modifications or truncations.
	Amino Acid Composition	• Amino acid Analyzer	Determine amino acid composition and confirm overall protein identity.
	N&C-Terminal Variants (Pyroglutamate, VHS, Lysine,Proline Amidation)	• LC-MS/MS • N & C-terminal Sequencing by Edman Degradation • HIC-HPLC • IEX-HPLC • HPLC and MALDI-TOF/MS	Identify terminal modifications (pyroglutamate, amidation, lysine truncation).

عنوان	راهنمای مطالعات ثبت بیوسیمیلار		
شماره	GUI-DPNA-BIO-013	تاریخ شروع اجراء	۱۴۰۴/۱۱/۲۰
شماره بازنگری	00	تاریخ اعتبار	-

Category	Quality Attribute	Methods	Purpose / Description
Higher Order Structures	Disulfide bond localization & Free sulfhydryl groups	• LC-MS/MS • MALDI-TOF • Electrospray MS • Reduced Tryptic/Asp-N Peptide Map (Free Thiol Derivatization) • Enzymatic peptide mapping with LCMS (reduced&nonreduced) • Enzymatic peptide mapping with RP-HPLC-ESI–MS (nonreduced) • Ellman's assay	Identify disulfide linkage pattern and quantify free sulfhydryl groups.
	Secondary & Tertiary Structure	• Nonreduced peptide mapping, LC-UV-MS • FarUV-CD • FT-IR • NearUV-CD • Intrinsic fluorescence spectroscopy • HDX-MS • X-ray crystallography	Evaluate folding, secondary and tertiary structure integrity.
	Thermal Transition Analysis	• DSC	Determine protein thermal stability (melting temperature, Tm).
	Quaternary Structure	• SE-HPLC • SEC-MALLS • Dynamic light scattering • Analytical ultracentrifugation	Evaluate protein oligomerization, aggregation, and quaternary conformation.
PTMs	Glycosylation (Oligosaccharide Profiling, Monosaccharide Analysis, Sialic Acid Content, antennary profile, …)	• CE-LIF • IEX • HILIC-UPLC/FLD • HPAEC-PAD • RP-HPLC • CE-SDS • MALDI-TOF MS • CE after fluorescent derivatization • ESI-MS • Tryptic peptide mapping with LCMS • ESI-TOF (with DTT and PNGaseF) • 2-AB Labeled NP – UPLC	Characterize glycan profile, monosaccharide composition, and sialic acid content.

عنوان	راهنمای مطالعات ثبت بیوسیمیلار		
شماره	GUI-DPNA-BIO-013	تاریخ شروع اجراء	۱۴۰۴/۱۱/۲۰
شماره بازنگری	00	تاریخ اعتبار	-

Category	Quality Attribute	Methods	Purpose / Description
		• LC/ESI-QTOF-MS	
	Other PTMs (Oxidation, Deamidation, Glycation, Pyroglutamate formation, IsoAsp formation, …)	• Tryptic Peptide Mapping (reduced&nonreduced) with LC/MS • Reduced S-Carboxymethylated Asp-N Peptide Map • Peptide Mapping (reduced) Separated by RP-UPLC analyzed by LC/MS & LC/MS/MS • CE-SDS / RP-HPLC • IEC • HIC	Detect and quantify oxidative, deamidated, or glycated variants
Size & Charge Heterogeneity	Size Variants & Impurities(Monomer, HMWS, LMWS, …)	• SE-HPLC & Gel permeation chromatography (GPC) • SEC-MALLS • SE-HPLC-SLS • Nonreduced and reduced CE-SDS • CE-SDS NGS • SDS-PAGE (reduced and non-reduced) • Asymmetrical Flow Field-Flow Fractionation (AF4) • SV-AUC • DLS	Detect aggregates (HMWS), fragments (LMWS), and monomer purity.
	Charge Variants & Impurity	• CZE • IEF • cIEF • icIEF • IEX	Characterize charge heterogeneity and identify acidic/basic variants.
Functional Properties	Binding Assays (Target Antigen, FcRn, C1q, FcgReceptors)	• ELISA • SPR • Cell-based competitive-binding assay • Competitive ELISA • FcRn Affinity Chromatography	Measure binding affinity to target antigen or Fc receptors.

عنوان	راهنمای مطالعات ثبت بیوسیمیلار		
شماره	GUI-DPNA-BIO-013	تاریخ شروع اجراء	۱۴۰۴/۱۱/۲۰
شماره بازنگری	00	تاریخ اعتبار	-

Category	Quality Attribute	Methods		Purpose / Description
	Activity Assays (Target activity, ADCC, CDC, ADCP, Apoptosis)	• Functional cell-based assay • Biochemical assays • Animal-based biological assays • FACS		Evaluate biological potency and effector function.
ADC Specific	Drug (Chemical Structure, Stereochemistry, polymorph screening)	• Elemental analysis • FT-IR (ATR) • UV Spectrum • 1H-NMR Spectroscopy • 13C-NMR Spectroscopy • 1H-1H Homonuclear Correlation Spectroscopy (COSY) • 1H-13C Heteronuclear Multiple Quantum Coherence (HMQC) Spectroscopy • 1H-13C Heteronuclear Multiple Bond Coherence (HMBC) Spectroscopy • High Resolution Positive Mode ESI-MS • Crystal X-ray structure analyses • Solvent vapor exposure method		Confirm small-molecule structure, stereochemistry, and polymorphism
	Antibody Drug Conjugate	Free Drug	• RP-HPLC	Determine ADC purity, DAR (drug-to-antibody ratio), and residual impurities.
		Unconjugated mAb	• HI-HPLC	
		Purity of Payload	• RP-HPLC	
		Cross-linked species	• CE-SDS	
		Non-proteinaceous impurities	• RP-HPLC	
		Elemental impurities	• ICP-MS	
		Residual Solvents	• GC	
		Related Substances	• RP-HPLC	
		DAR (drug–antibody ratio)	• ESI-MS • UV spectroscopy • RP-HPLC	
		Assay	• RP-HPLC	

۹-۳-۲- توضیحات کلمات مخفف استفاده شده به شرح زیر است:

Abbreviation	Full Form
MS	Mass Spectrometry
TOF	Time-of-Flight
SDS-PAGE	Sodium Dodecyl Sulfate–Polyacrylamide Gel Electrophoresis
ESI-MS	Electrospray Ionization Mass Spectrometry
SEC-MALLS	Size-Exclusion Chromatography coupled with Multi-Angle Laser Light Scattering
LC/MS	Liquid Chromatography–Mass Spectrometry
UV-Vis	Ultraviolet–Visible Spectroscopy
cIEF	Capillary Isoelectric Focusing
iCIEF / icIEF	Imaged Capillary Isoelectric Focusing
IEF	Isoelectric Focusing
2D-GEL	Two-Dimensional Gel Electrophoresis
RP-UPLC	Reversed-Phase Ultra-Performance Liquid Chromatography
LC/MS/MS	Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry
RP-HPLC	Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography
HIC-HPLC	Hydrophobic Interaction Chromatography–High Performance Liquid Chromatography
IEX-HPLC / IEC	Ion-Exchange Chromatography–High Performance Liquid Chromatography
FT-IR	Fourier Transform Infrared Spectroscopy
CD (FarUV-CD / NearUV-CD)	Circular Dichroism
HDX-MS	Hydrogen–Deuterium Exchange Mass Spectrometry
DSC	Differential Scanning Calorimetry
SE-HPLC	Size-Exclusion High-Performance Liquid Chromatography
DLS	Dynamic Light Scattering
AUC / SV-AUC	Analytical Ultracentrifugation / Sedimentation Velocity–Analytical Ultracentrifugation
CE-LIF	Capillary Electrophoresis–Laser-Induced Fluorescence
HILIC-UPLC/FLD	Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography–Ultra-Performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detection
HPAEC-PAD	High-Performance Anion-Exchange Chromatography with Pulsed Amperometric Detection
CE-SDS / CE-SDS NGS	Capillary Electrophoresis–Sodium Dodecyl Sulfate / Next Generation CE-SDS
ESI-TOF	Electrospray Ionization–Time-of-Flight

PNGase F	Peptide: N-Glycosidase F (used for deglycosylation)
NP–UPLC	Normal-Phase Ultra-Performance Liquid Chromatography
QTOF / LC/ESI-QTOF-MS	Quadrupole Time-of-Flight Mass Spectrometry / Liquid Chromatography–Electrospray Ionization–Quadrupole Time-of-Flight Mass Spectrometry
HIC	Hydrophobic Interaction Chromatography
AF4	Asymmetrical Flow Field-Flow Fractionation
CZE	Capillary Zone Electrophoresis
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
SPR	Surface Plasmon Resonance
FACS	Fluorescence-Activated Cell Sorting
ATR-FTIR	Attenuated Total Reflection Fourier Transform Infrared Spectroscopy
NMR (^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR)	Nuclear Magnetic Resonance (Proton / Carbon-13)
COSY	Correlation Spectroscopy
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
ICP-MS	Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry
GC	Gas Chromatography
UV	Ultraviolet Spectroscopy
MALS	Multi-Angle Light Scattering
SLS	Static Light Scattering
RP-HPLC-UV	Reversed-Phase HPLC with Ultraviolet Detection

۹-۳-۳- مطالعات ارزیابی کیفی سلول تولید کننده

مطالعات ارزیابی کیفی سلول تولید کننده مولکول بیوسیمیلار در جداول زیر آمده است:

Characterization of MCB and WCB for Mammalian Cell Lines (CHO, SP2/0, Vero)

Test Category	Test Performed	MCB	WCB	EPC
VIABILITY & GROWTH				
	Post-Thaw Viability	✓	✓	✓
	Doubling Time / Growth Kinetics	✓	✓	✓
IDENTITY				
	Species Identification (Isoenzyme / DNA Barcoding)	✓	(✓)	✓
	STR DNA Profiling	✓	✓	(✓)

عنوان	راهنمای مطالعات ثبت بیوسیمیلار		
شماره	GUI-DPNA-BIO-013	تاریخ شروع اجراء	۱۴۰۴/۱۱/۲۰
شماره بازنگری	00	تاریخ اعتبار	-

Test Category	Test Performed	MCB	WCB	EPC
PURITY & STERILITY				
	Sterility (Bacteria & Fungi)	✓	✓	✓
	Mycoplasma (Culture & PCR)	✓	✓	✓
VIRAL SAFETY				
	In Vitro Adventitious Virus Assay	✓	(Note 1)	✓
	In Vivo Adventitious Virus Test	✓	(Note 1)	✓
	Mouse Antibody Production (MAP)	✓ (Note 2)	(Note 1)	✓ (Note 2)
	Hamster Antibody Production (HAP)	✓ (Note 3)	(Note 1)	✓ (Note 3)
	Retrovirus Testing (TEM/Infectivity)	✓ (Note 4)	(Note 1)	✓ (Note 4)
	Virus-Specific PCR Panel (e.g., MMV, Bovine, Porcine)	✓	(Note 1)	✓
	Reverse Transcriptase (for Retrovirus)	(✓) (Note 4)	(Note 1)	✓ (Note 4)
GENETIC CHARACTERIZATION				
	Copy Number Analysis (qPCR/ddPCR)	✓	-	✓
	Sequence Verification (Sanger/NGS)	✓	-	✓
	Genetic Stability Assessment	✓	-	✓
PRODUCTIVITY				
	Specific Productivity / Titer	✓	-	✓

Notes:

1. **WCB Viral Testing:** Per ICH Q5A, viral testing for WCBs is generally not required if the MCB has been thoroughly tested and the WCB is derived under a well-controlled system.
2. **MAP Test:** Essential for cell lines of murine origin (like SP2/0) or those exposed to murine-derived materials.
3. **HAP Test:** Essential for cell lines of hamster origin (like BHK) or those exposed to hamster-derived materials. May be considered for VERO based on risk assessment.
4. **Retrovirus Testing:** A core battery for SP2/0. For CHO and VERO, it is performed to detect contamination with exogenous retroviruses, not endogenous ones.

Characterization of MCB and WCB for Hi-5 and Sf9 Insect Cell Lines

Test / Analysis Category	MCB (Master Cell Bank)	WCB (Working Cell Bank)	Recommended Method(s)
1. Identity			
Species Verification	✓	-	Isoenzyme Analysis by electrophoresis (e.g., on agarose gel).
Genetic Identity	✓	✓	DNA Fingerprinting: PCR-based methods like RAPD (Random Amplification of

عنوان	راهنمای مطالعات ثبت بیوسیمیلار		
شماره	GUI-DPNA-BIO-013	تاریخ شروع اجراء	۱۴۰۴/۱۱/۲۰
شماره بازنگری	00	تاریخ اعتبار	-

Test / Analysis Category	MCB (Master Cell Bank)	WCB (Working Cell Bank)	Recommended Method(s)
			Polymorphic DNA), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), or STR (Short Tandem Repeat) analysis.
Cell Morphology	✓	(Visual inspection)	Phase-Contrast Microscopy.
2. Purity (Freedom from Contaminants)			
Sterility (Bacteria & Fungi)	✓	✓	Direct Inoculation according to USP <71> or Membrane Filtration according to Ph. Eur. 2.6.27.
Mycoplasma	✓	✓	Culture Method (the gold standard, 28-day incubation) and/or Indicator Cell Culture (DNA staining with Hoechst 33258) per Ph. Eur. 2.6.7. Nucleic Acid Amplification Test (NAAT/PCR) as a rapid alternative.
Specific Insect Viruses	✓	(Reduced Panel or PCR)	PCR or RT-PCR with virus-specific primers for pathogens like: • *Insect Iridescent Virus (IIV-6)* • Cytoplasmic Polyhedrosis Virus (CPV) • Densonucleosis Virus (DNV) • Spodoptera exigua Ascovirus (SeAV)
Broad Viral Screening	✓	-	Transmission Electron Microscopy (TEM).
Adventitious Viruses (General)	✓	-	In Vitro Assay: Inoculation of cell lysates/ supernatants onto a panel of indicator cell lines (e.g., Vero, MRC-5 for mammals; Sf9, Hi-5 for insects) and monitoring for Cytopathic Effect (CPE).
3. Genetic Stability & Function			
Viability & Growth Kinetics	✓	✓	Trypan Blue Exclusion (for viability) and Cell Counting (for growth curve: population doubling time, maximum cell density).
Karyotype Stability	✓	-	Karyotyping/Giemsa Banding of metaphase chromosomes.
Susceptibility to Baculovirus	✓	✓	Infection Test: Infect cells with a standard baculovirus (e.g., baculo-GFP) at a specific MOI and monitor infection progression via fluorescence or cell morphology.
4. Baculovirus-Specific Safety			

عنوان	راهنمای مطالعات ثبت بیوسیمیلار		
شماره	GUI-DPNA-BIO-013	تاریخ شروع اجراء	۱۴۰۴/۱۱/۲۰
شماره بازنگری	00	تاریخ اعتبار	-

Test / Analysis Category	MCB (Master Cell Bank)	WCB (Working Cell Bank)	Recommended Method(s)
Freedom from Adventitious Baculovirus	✓	-	PCR with primers for common baculovirus genes (e.g., polyhedrin, gp64). In Vivo Assay: Amplify cell lysate in permissive cells and check for viral production (e.g., by plaque assay or TEM).

Characterization of MCB and WCB for yeast (Pichia pastoris)

Test / Analysis Category	MCB	WCB	Recommended Method(s)
1. Identity			
Species/Strain Verification	✓	✓	PCR Amplification of species-specific genomic sequences (e.g., AOX1 gene) or Sequencing of the D1/D2 domain of the 26S rRNA gene.
Plasmid/Expression Construct Identity	✓	✓	Restriction Endonuclease Mapping (Digestion) of isolated plasmid DNA followed by agarose gel electrophoresis. PCR of the HBsAg gene insert.
Host Strain Genotype	✓	(Confirmation from MCB)	Phenotypic Testing on selective media
2. Purity (Freedom from Contaminants)			
Sterility (Bacteria & Fungi)	✓	✓	Membrane Filtration per USP <71>/Ph. Eur. 2.6.27 or Direct Inoculation of culture media.
Mycoplasma	✓	✓	Culture Method and/or Indicator Cell Culture (DNA staining) per Ph. Eur. PCR as a rapid method.
Bacteriophage & Yeast Viral Contaminants	✓	(Optional, or by process validation)	PCR for known yeast viruses (e.g., L-A virus). Plaque Assay or Biolayer Interferometry for bacteriophage detection.
Adventitious Viruses (General)	✓	-	In Vitro Assay: Inoculation of cell bank lysate onto a panel of mammalian indicator cell lines (e.g., Vero, MRC-5) and observation for Cytopathic Effect (CPE). In Vivo Assay (e.g., egg embryonation).
3. Genetic Stability			
Plasmid Sequence & Integrity	✓	(Targeted testing)	Full Plasmid Sequencing of multiple clones from the MCB. Sanger Sequencing of the HBsAg insert and critical regions from the WCB.
Plasmid Copy Number & Retention	✓	✓	qPCR to determine the average plasmid copy number per cell. Plating on Selective vs. Non-

عنوان	راهنمای مطالعات ثبت بیوسیمیلار		
شماره	GUI-DPNA-BIO-013	تاریخ شروع اجراء	۱۴۰۴/۱۱/۲۰
شماره بازنگری	00	تاریخ اعتبار	-

Test / Analysis Category	MCB	WCB	Recommended Method(s)
			Selective Media to determine plasmid retention rate (>90% is typical).
Phenotypic Stability	✓	✓	Fermentation Performance in lab-scale bioreactors: Assess growth rate, methanol metabolism (if applicable), and consistent HBsAg expression levels compared to the MCB baseline.
4. Vector-Host System Specifics			
Integration into Genome (if applicable)	✓	✓	Southern Blot Analysis or Long-Range PCR.
Absence of Antibiotic Resistance Genes (if claimed)	✓	✓	PCR and Culture on media containing the relevant antibiotic.

Characterization for E. coli Cell Banks

Test Category	Test Performed	MCB	WCB	EPC
VIABILITY & GROWTH				
	Post-Thaw Viability (Cell Count)	✓	✓	(✓)
	Growth Kinetics (Doubling Time)	✓	✓	(✓)
	Plating Efficiency (CFU)	✓	✓	-
IDENTITY				
	Genotypic Identity (DNA Fingerprinting)	✓	✓	(✓)
	Phenotypic Identity (Biochemical Profile)	✓	(✓)	-
	Plasmid Retention (without selection)	✓	-	✓
PURITY & STERILITY				
	Sterility (Bacteria & Fungi)	✓	✓	✓
	Bacteriophage Contamination	✓	-	(✓)
	Absence of Host Cell Proteins/Contaminants	-	-	✓
GENETIC CHARACTERIZATION				
	Plasmid Sequence Verification	✓	-	✓
	Plasmid Copy Number	✓	-	✓
	Restriction Map Analysis	✓	-	(✓)
	Genetic Stability (at or beyond EPC limit)	✓	-	✓

عنوان	راهنمای مطالعات ثبت بیوسیمیلار		
شماره	GUI-DPNA-BIO-013	تاریخ شروع اجراء	۱۴۰۴/۱۱/۲۰
شماره بازنگری	00	تاریخ اعتبار	-

Test Category	Test Performed	MCB	WCB	EPC
PRODUCT-SPECIFIC ANALYSIS				
	Expression Stability & Productivity	✓	-	✓

✓ = Routinely Performed. A core test for that bank type.

(✓) = May be performed or conditionally required. Often done as in-process testing or based on risk assessment.

- = Typically Not Performed. The test is not a standard requirement for this bank type.

۹-٤- پیوست D مثال های رگولاتوری درباره حذف مطالعه تطبیقی اثربخشی/ایمنی «Waive CES»

۹-٤-۱- G-CSF (فیلگراستیم/پگ‌فیلگراستیم) الگوی کلاسیک حذف CES

- **موضع رگولاتوری(EMA)** : در راهنمای اختصاصی rhG-CSF تصریح شده که با **تحلیل‌های مقایسه‌ای قوی + PK/PDدر داوطلبان سالم(HV)** ، می‌توان بدون انجام CES در بیماران، بسندگی شواهد را نشان داد (ANC به‌عنوان PDحساس).
- **ارزیابی‌های** در پرونده فیلگراستیم **ارزیابی پاسخ PD در افراد سالم برای اثبات اثربخشیِ بیوسیمیلار-rhG CSFکافی تلقی می‌شود** و چارچوب PK/PD به‌صورت روشن پذیرفته شده است.
- **مصادیق منتشرشده (اتحادیه اروپا) :**صفحه EPAR/PAR نشان می‌دهد بسته بالینی **PDدر HV** است و نیازی به CESبیمار-محور جدید دیده نشده است. روند مشابه برای بسیاری از برنامه‌های پگ‌فیلگراستیم گزارش شده است (برنامه‌به‌برنامه ممکن است تفاوت‌هایی وجود داشته باشد، ولی «الگوی-PK/PD محور» پذیرفته و به خوبی شناخته شده است).
- **موضع به‌روز FDA درباره PK/PD به‌جای CES (قابل تعمیم به‌G-CSF):** اسناد و سخنرانی‌های FDA تصریح می‌کنند که **بیوسیمیلارها می‌توانند صرفاً با PK و PD بیومارکرهای مناسب، بدون مطالعه اثربخشی تطبیقی، تأیید شوند**؛ اغلب در **HV**ها انجام می‌گیرد.

۹-٤-۲- PTH تری‌پاراتاید «CES-Light» (با اتکای اصلی به PK و PD ساده)

- **نمونه روشن اتحادیه اروپا Terrosa/ RGB-10** : EPAR تصریح می‌کند (**مطالعات اثربخشی/ایمنی انجام‌شده با Forsteo نیاز نیست برای Terrosa تکرار شود**)؛ یک مطالعه **PK در ۵۴ زن سالم** هم‌ارزی مواجهه را نشان

عنوان	راهنمای مطالعات ثبت بیوسیمیلار		
شماره	GUI-DPNA-BIO-013	تاریخ شروع اجراء	۱۴۰۴/۱۱/۲۰
شماره بازنگری	00	تاریخ اعتبار	-

داده و **اثر مشابه بر کلسیم خون** به‌عنوان PD مکانیسمی گزارش شده است. اسناد Terrosa و مرورهای علمیِ مرتبط (بررسی غلظت کلسیم سرمی بعنوان یک پارامتر **فارماکودینامیک**)، رویکرد **bioequivalence محور در HV** را تأیید می‌کنند.

۹-٤-۳- مونوکلونال آنتی‌بادی‌ها — (mAbs) جریان جدید «Waive CES»

- **جهت‌گیری** FDA صریحاً اعلام می‌کند که **وقتی PD بیومارکرِ حساس در دسترس باشد، PK/PDمی‌تواند جایگزین CES شود** و حتی در نبود PD مناسب، باید سنجید که **آیا CES واقعاً عدم‌قطعیت معناداری را کم می‌کند یا خیر .برنامه‌ها می‌توانند در HV اجرا شوند** اگر ایمنی اجازه دهد.
- **نخستین پذیرش حذف CES برای یک mAb پرونده اوستکینوماب/استلارا**

FDAبرای اولین‌بار حذف CES را برای یک مونوکلونال آنتی‌بادی پذیرفته است و پرونده در مراحل آخر ورود به بازار قرار دارد و تحت بررسی قرار گرفته است .

۹-۵- پیوست E رویکردهای رگولاتوری در خصوص مطالعات PK/PD

این پیوست شامل مروری مختصر از الزامات و رویکرد سایر نهادهای معتبر جهانی در خصوص مطالعات Clinical Pharmacology (PK&PD) که برای پشتیبانی از اثبات biosimilarity ارائه می‌شوند، می‌باشد. با این وجود بهره گیری از راهنماهای مورد اشاره در بخش چارچوب‌های مرجع در تدوین پروتکل و اجرای مطالعات ضروری است.

مطالعات PK/PD با هدف پاسخ به عدم قطعیت های باقی‌مانده پس از ارزیابی analytical similarity طراحی می‌شوند و جزء اساسی رویکرد totality-of-the-evidence محسوب می‌گردند. ملاحظات مربوط به analytical similarity و manufacturing در بخش‌های دیگر این راهنما بیان شده و در این پیوست تکرار نمی‌شوند.

موضوع اول: طراحی مطالعه ی PK

در طراحی مطالعه ی PK بطور کلی نظرات سازمان های نظارتی مشابه هم می باشد که در ادامه به ذکر برخی از موارد در این خصوص اشاره می گردد.

عنوان	راهنمای مطالعات ثبت بیوسیمیلار		
شماره	GUI-DPNA-BIO-013	تاریخ شروع اجراء	۱۴۰۴/۱۱/۲۰
شماره بازنگری	00	تاریخ اعتبار	-

EMA در قسمت مطالعات فارماکوکینتیک در راهنمای خود بیان می کند که مطالعه ی فارماکوکینتیک باید بصورت تک دوز یا حالت پایدار (steady state) با اولیت افراد سالم انجام شود. در مسیر جذب زیرجلدی دارو از طریق سیستم لنفوی جذب می شود که مقدار جذب کمتر از ۱۰۰ درصد خواهد بود. باید در نظر داشته باشیم که محل تزریق، عمق، حجم و غلظت محلول و ویژگی‌های فردی می‌توانند بر جذب اثر بگذارند. همچنین تغییرات فرمولاسیون یا مسیر تجویز ممکن است PK و ایمنی را تغییر دهد. مسیر اصلی دفع معمولاً با وزن مولکولی قابل پیش‌بینی است. پروتئین‌های کوچک (<50kDa) عمدتاً از طریق کلیه و متابولیسم دفع می‌شوند. پروتئین‌های بزرگ‌تر بیشتر از طریق سلول‌ها یا گیرنده‌های هدف و کاتابولیسم دفع می‌شوند. متابولیت‌های فعال باید در صورت امکان اندازه‌گیری شوند، زیرا ممکن است PK متفاوتی نسبت به ترکیب اصلی داشته باشند. در بیوسیمیلار ها توزیع به بافت‌ها اغلب بخشی از دفع است نه توزیع، بنابراین Vss کوچک لزوماً به معنای نفوذ کم به بافت‌ها نیست[1].

همچنین می افزاید برای مطالعه‌ی بیوسیمیلار اگر هر دو روش تزریق وریدی و زیرجلدی (یا هر روش غیر وریدی) قابل انجام است برای اینکه بتوان پدیده ی جذب را هم مورد بررسی قرار داد بهتر است روش غیر وریدی انتخاب شود و بنابراین، در صورتی که قابلیت مقایسه بیوسیمیلار از نظر جذب و حذف برای راه تجویز زیرجلدی اثبات شده باشد، می‌توان از ارزیابی تجویز درون‌وریدی صرف‌نظر کرد. البته در مواردی که سرعت جذب کمتر از سرعت حذف باشد (پدیده ی flip-flop) این موضوع باید مورد بررسی قرار گیرد[2].

نمود این مطلب را می توان در گزارش بررسی پرونده‌ی داروی Yesintek (ustekinumab-kfce) به عنوان بیوسیمیلار داروی Stelara توسط FDA آمریکا نیز مشاهده کرد.

1 Guideline on the clinical investigation of the pharmacokinetics of therapeutic proteins, EMA, 2007.

2 Guideline on similar biological medicinal products containing biotechnology-derived proteins as active substance: non-clinical and clinical issues, EMA, 2014.

5.3. Human Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Studies

PK Similarity Study Design Features

5.3.1. STUDY BM12H-NHV-01-G-01

The PK similarity study comparing Bmab1200, EU-Stelara and US-Stelara was conducted in healthy subjects (Study BM12H-NHV-01-G-01). This was a multiple-center, randomized, double-blind, 3-arm, parallel group study conducted in 2 sites in the United Kingdom. Subcutaneous route of administration was chosen for this study, as it

35

Reference ID: 5487074

Biosimilar Multidisciplinary Evaluation and Review (BMER)

is more sensitive compared to IV administration, to detect any potential PK differences during the absorption phase in addition to the distribution and elimination phase. Approximately 258 subjects (86 per group) were planned to be enrolled to ensure that at least 246 subjects completed the study. A subcutaneous dose of 45 mg for Bmab1200, US Stelara, or EU Stelara was administered to the respective treatment groups. A schematic representation of the study design is shown below in Figure 1.

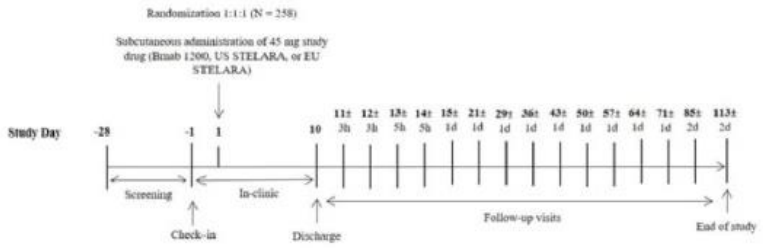


Figure 1. Schematic of study design for Study BM12H-NHV-01-G-01

Source: Applicant's Clinical Study Report

Figure۱: *Yesintek Multidisipline Review*
https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2025/761406Orig1Orig2s000MultidisciplineR.pdf

عنوان	راهنمای مطالعات ثبت بیوسیمیلار		
شماره	GUI-DPNA-BIO-013	تاریخ شروع اجراء	۱۴۰۴/۱۱/۲۰
شماره بازنگری	00	تاریخ اعتبار	-

موضوع دوم: معیارهای اصلی شباهت

محدوده های مقایسه پذیری بیوسیمیلار برای پارامترهای اصلی فارماکوکینتیک باید پیش از انجام مطالعه تعریف و توجیه شوند. بر اساس راهنمای موجود **AUC** و **Cmax** به عنوان معیارهای اصلی شباهت PK تلقی می شوند.

AUC دارای انواع مختلفی می باشد (مانند AUC_{0-t}، $AUC_{0-\infty}$، AUC_{norm}، AUC_{pop}، $AUC_{t-\infty}$ و ...) که محاسبات هر کدام نیز متفاوت می باشد. به طور کلی FDA آمریکا AUC0-∞ را معرفی می کند که البته بسته به شرایط مختلف می توان سایر AUCها را نیز در نظر گرفت. به طور مثال در راهنمای بایواکی والانسی FDA توضیح داده شده است که در مواردی می توان از AUC0-t و حتی AUC0-72h به عنوان جایگزین AUC0-∞ استفاد ه کرد.

همچنین EMA پارامتر های فارماکوکینتیک را به دو دسته ی اولیه (Primay) و ثانویه (Secondary) تقسیم می کند که در آن $AUC_{0-\infty}$ و Cmax به عنوان پارامتر های اولیه و سایر موارد به عنوان پارامتر های ثانویه معرفی شده اند.

> In a single dose PK study, the primary parameters are the $AUC_{(0-inf)}$ for intravenous administration and $AUC_{(0-inf)}$ and usually C_{max} for subcutaneous administration. Secondary parameters such as t_{max}, volume of distribution, and half-life, should also be estimated. In a multiple dose study, the primary parameters should be the truncated AUC after the first administration until the second administration (AUC_{0-t}) and AUC over a dosage interval at steady state (AUC|). Secondary parameters are C_{max} and C_{trough} at steady state.

Figure ۲:Guideline on similar biological medicinal products containing biotechnology-derived proteins as active substance: non-clinical and clinical issues 18 Dec 2014

برنامه‌ی نمونه‌گیری باید به‌گونه‌ای طراحی شود که امکان توصیف مناسب منحنی غلظت پلاسمایی ـ زمان را فراهم کرده و برآورد قابل‌اطمینانی از میزان مواجهه فراهم آورد. این شرط زمانی محقق می‌شود که AUC(0–t) حداقل ۸۰ درصد از AUC0-∞ را پوشش دهد.

به‌منظور امکان برآورد دقیق و قابل‌اعتماد ثابت نرخ حذف نهایی (λz)، که برای محاسبه ی معتبر AUC0-∞ ضروری است، حداقل سه تا چهار نمونه در فاز نهایی لگاریتمی ـ خطی لازم است.

عنوان	راهنمای مطالعات ثبت بیوسیمیلار		
شماره	GUI-DPNA-BIO-013	تاریخ شروع اجراء	۱۴۰۴/۱۱/۲۰
شماره بازنگری	00	تاریخ اعتبار	-

برای مقایسه ی میزان مواجهه، استفاده از AUC در زمان ۷۲ ساعت [AUC(0–72h)] می‌تواند به‌عنوان جایگزین قابل‌قبول AUC(0–t) مورد استفاده قرار گیرد، زیرا فاز جذب در فرآورده‌های با رهش سریع تا ۷۲ ساعت تکمیل می‌شود. بر این اساس، دوره ی نمونه‌گیری بیش از ۷۲ ساعت برای هر فرآورده ی با رهش سریع، بدون‌توجه به نیمه‌عمر دارو، ضروری تلقی نمی‌شود[۳].

داروهای بیوسیمیلار اکثرا شامل پروتئین های بزرگ (مانند مونوکلونال آنتی بادی ها) با نیمه عمر طولانی هستند که در این شرایط نمونه گیری ها ممکن است بسیار طولانی تر از دارو های شیمیایی معمولی باشد و تا چند هفته به طول بیانجامد لذا AUC(0-72h) "**به جز**" در مواردی مانند دارو های بیوسیمیلار سریع رهش مانند برخی "**انسولین ها**" بی‌معنی خواهد بود. به عنوان مثال داروی trastuzumab biosimilar با نام تجاری Ontruzant® در پرونده ی تایید شده ی EMA گزارش AUC را بصورت ۲۱ روزه ارائه نموده است.

Table 14 Population predicted cycle 1 PK exposure values (median with 5th - 95th percentiles) for trastuzumab intravenous infusion dosing regimens in MBC, EBC and AGC patients

Regimen	Primary tumour type	N	C_{min} (µg/mL)	C_{max} (µg/mL)	$AUC_{0\text{-}21days}$ (µg.day/mL)
8mg/kg + 6mg/kg q3w	MBC	805	28.7 (2.9-46.3)	182 (134-280)	1376 (728-1998)
	EBC	390	30.9 (18.7-45.5)	176 (127-227)	1390 (1039-1895)
	AGC	274	23.1 (6.1-50.3)	132 (84.2-225)	1109 (588-1938)
4mg/kg + 2mg/kg qw	MBC	805	37.4 (8.7-58.9)	76.5 (49.4-114)	1073 (597-1584)
	EBC	390	38.9 (25.3-58.8)	76.0 (54.7-104)	1074 (783-1502)

Figure۳ : *EMA-Ontruzant-epar-product-information_en*

در خصوص معیار غلطت FDA آمریکا دو غلظت Cmax (برای داروهای تک دوز) و Cthrough ss (برای داروهای چند دوزی) را ارائه می نماید. توضیح آنکه Cthrough ss کمترین غلظت دارو در خون در حالت پایدار (Steady State)، درست قبل از دوز بعدی است. وقتی دارو چندین بار تجویز می‌شود (مثلاً هر روز، هر هفته، هر دو هفته...)، غلظتش در خون بالا و پایین

3 Guideline on the Investigation of Bioequivalence, EMA, 2010.

می‌رود. در هر سیکل دوز، **پایین‌ترین نقطه** غلظت، همان Cthrough است. وقتی دارو به حالت پایدار برسد (ss)، یعنی میزان ورود و خروج دارو متعادل شده، Cthrough ss به شکل ثابت‌تری دیده می‌شود.

موضوع سوم: نحوه ی انجام مطالعه ی فارماکوکینتیک

سابق بر این در عمده پرونده های بیوسیمیلار به جز موارد استثناء (مانند انسولین ها و فیلگراستیم) مطالعات CES لازم الاجرا بود و مطالعه‌ی فارماکوکینتیک در حین انجام مطالعه ی CES (در فاز ۱ و ۳ بالینی) انجام می شد که این امر در بسیاری از پرونده های بیوسیمیلار ثبت شده در FDA و EMA قابل مشاهده است. به عنوان مثال این مطالعه برای داروی بیوسیمیلار Yuflyma(Adalimumab) در فاز یک بالینی با تعداد ۳۱۲ نفر انجام شده است (تصویر ۵).

Table 4. Overview of CT-P17 Clinical Development Program

Study Identity	Study Objective	Study Design	Study Population	Treatment Groups
PK Similarity Studies				
CT-P17 1.1 (PK similarity study)	**Primary:** To demonstrate the PK similarity in terms of Cmax, AUC0-inf, and AUC0-last over 71 days **Secondary:** To evaluate the additional PK parameters, safety, and immunogenicity over 71 days	Phase 1, randomized, double-blind, three arm, parallel group, single-dose study in healthy male and female subjects	Healthy subjects	40 mg/0.4 ml (100 mg/mL), a single PFS SC injection of study drug **Randomized: 312** • CT-P17: 103 • EU-Humira: 106 • US-Humira: 103
CT-P17 1.2 ("Pilot" Study)	**Primary:** To evaluate safety in terms of TEAEs over 120 days **Secondary:** To evaluate the PK parameters and additional safety including immunogenicity over 120 days	Phase 1, randomized double-blind, two- arm, parallel group, single-dose study in healthy subjects	Healthy subjects	40 mg/0.4 ml (100 mg/mL), a single PFS SC injection of study drug **Randomized: 30** • CT-P17: 15 • EU-Humira: 15
Comparative Clinical Study				
CT-P17 3.1 (Comparative efficacy and safety study)	**Primary**: To demonstrate efficacy similarity as determined by clinical response according to ACR20 at Week 24. **Secondary**: To evaluate additional efficacy, PK, PD, usability and overall	Phase 3, randomized, active-controlled, double-blind, co-administered with MTX in patients with moderate to severe active rheumatoid arthritis	Rheumatoid arthritis subjects receiving concomitant methotrexate	40 mg/0.4 mL (100 mg/mL) by PFS SC injection of study drug every other week Randomized: • CT-P17: N=324 • EU-Humira: N=324 Co-administered with methotrexate (12.5 to 25 mg/week, or 10 mg/week if intolerant to a higher dose, oral or parenteral

Figure۴ : *Yuflyma Multidisipline Review*
(https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2023/761219Orig1s000MultidisciplineR.pdf)

در مواردی که مطالعه ی PK به طور اختصاصی انجام شده است تعداد افراد مورد مطالعه بسیار کمتر بوده است. به عنوان مثال برای داروی Rezvoglar(Insulin Glargine) تعداد افراد و نحوه‌ی مطالعه به شرح (تصویر۶) می باشد. همانطور که قابل مشاهده است تعداد افراد حد اکثر ۹۱ نفر و حداقل ۴۰ نفر بوده است.

Table 2. Listing of All Submitted Clinical Studies

Study Identity	National Clinical Trial (NCT) no.	Study Objective	Study Design	Study Population	Treatment Groups
PK Similarity Study					
Study I4L-MC-ABEO	NCT01688635	To compare the relative PK and PD properties of LY2963016 and US-Lantus	Single-center, randomized, double blind, single-dose (0.5 U/kg), 2-treatment, 4-period, crossover, replicate, euglycemic clamp; active control (US-Lantus)	Healthy Subjects	91 randomized 82 completed all 4 treatment periods LY2963016: 88 US-Lantus: 89
Study I4L-MC-ABEA	NCT01476345	To compare the relative PK and PD properties of LY2963016 and EU-Lantus	Single-center, randomized, double blind, single-dose (0.5 U/kg), 2-treatment, 4-period, crossover, replicate, euglycemic clamp; active control (EU-Lantus)	Healthy Subjects	80 randomized 78 completed all 4 treatment periods LY2963016: 80 US-Lantus: 80
Study I4L-MC-ABEN		To compare the relative PK and PD properties of US-Lantus and EU-Lantus	Single-center, randomized, double blind, single-dose (0.5 U/kg), 2-treatment, 4-period, crossover, replicate, euglycemic clamp; active control (US-Lantus)	Healthy Subjects	40 randomized 34 completed all 4 treatment periods US-Lantus: 34 EU-Lantus: 34

Figure۵ *: Rezvoglar PK MULTI-DISCIPLINE REVIEW*
(https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2022/761215Orig1s000MultidisciplineR.pdf)