

LAST Name, First name : RODRIGUEZ Mathilde

26/09/2023 & 09h00

Room Z404 – 4th floor – (Grenoble INP Phelma – Minatec building).

Titre Thèse (en français) :

Interactions entre médicaments biologiques et matériaux à usage médical : étude à l'interface de la couche d'huile de silicone et de la formulation dans les seringues préremplies

And/or Thesis Title (in english) :

Interactions between biological drugs and materials for medical use: a study at the interface of the silicone oil layer and the formulation in pre-filled syringes

Mots-clés:

Anticorps monoclonal - Seringues préremplies - Interactions - Matériel médical - Tensioactifs - Huile de silicone - Protéine – Modèle de surface – Formulation Biothérapeutique – Adsorption – Interface – Matériaux à usage médical

and/or keywords

Monoclonal antibody - Medical device - Interactions - Prefilled syringes - Surfactant - Silicone oil – Proteins - Surface model – Biotherapeutical formulation – Adsorption – Interface – Materials for medical use

Jury members (see example in 1st line)

Precise : *Professor of university(Prof) *Doctor (Dr)	Initial First name, Last name,	Short address : Lab (or Univ / Research Center/...), Affiliation, City (COUNTRY)	Function in the jury
<i>Prof.</i>	<i>F. Bruckert</i>	<i>LMGP, CNRS, Grenoble INP Minatec, Grenoble (France)</i>	<i>Examiner,</i>
<i>Prof.</i>	<i>V. Sautou</i>	<i>CHRU Clermont-Ferrand Gabriel Montpiel, Clermont-Ferrand (France)</i>	<i>Rapporteur</i>
<i>Doctor</i>	<i>A. Ponche</i>	<i>IS2M, CNRS, Mulhouse (France)</i>	<i>Rapporteur</i>
<i>Doctor</i>	<i>E. Migliorini</i>	<i>BRM, Biosanté,CEA, Grenoble (France)</i>	<i>Examiner</i>
<i>Doctor</i>	<i>T. Ballet</i>	<i>Pierre Fabre, Toulouse (France)</i>	<i>Examiner</i>
<i>Prof.</i>	<i>H. Bodiguel</i>	<i>LRP, CNRS, Grenoble INP-UGA, Grenoble (France)</i>	<i>President</i>
<i>Doctor</i>	<i>M. Weidenhaupt</i>	<i>LMGP, CNRS, Grenoble INP Minatec, Grenoble (France)</i>	<i>Thesis Director</i>
<i>Doctor</i>	<i>C. Brunet</i>	<i>Becton Dickinson, Le Pont de Claix (France)</i>	<i>Thesis Co-director</i>

Résumé / (thanks to give both, french and English, if available)

Les seringues préremplies en verre¹ sont utilisées en médecine clinique pour l'injection de différentes formulations biothérapeutiques², telles que des vaccins ou des traitements par voie intraveineuse, en raison de leur précision et de leur facilité d'utilisation. Becton Dickinson (BD) propose différents types de seringues pour répondre aux besoins de ses clients. Cependant choisir la bonne seringue pour une formulation donnée peut être un défi en raison des potentielles interactions complexes entre les protéines et les matériaux des seringues préremplies pendant leur stockage et l'administration du médicament au patient.

D'une part les nouvelles formulations biothérapeutiques sont composées de protéines sensibles qui sont stabilisées et protégées de l'adsorption à l'interface par des agents tensioactifs. D'autre part, les seringues préremplies en verre sont siliconées pour garantir leurs performances de glissement et assurer l'injectabilité du médicament. Cette couche hydrophobe constitue un site d'adsorption préférentiel pour les protéines et les agents tensioactifs, ce qui peut affecter la stabilité des molécules du médicament, entraîner la libération d'huile de silicone dans la solution et causer des problèmes d'injectabilité³⁻⁵.

Par conséquent, il est préférable d'étudier la compatibilité de chaque produit « médicament-seringue ». Cependant, de telles études de stabilité peuvent être longues, idéalement couvrant la durée de conservation prévue du produit. Elles sont coûteuses car les formulations thérapeutiques sont chères, et la nécessité de reproductibilité repose sur de nombreux échantillons. De plus, la forme cylindrique de la seringue ne permet pas d'utiliser directement des méthodes de mesure standard, ce qui nécessite une préparation d'échantillons chronophage.

L'intérêt de BD est de comprendre les mécanismes qui régissent les phénomènes d'adsorption moléculaire à l'interface entre l'huile de silicone et la formulation. Ces connaissances pourront ainsi fournir des orientations scientifiques dans le choix de la meilleure seringue préremplie pour les formulations thérapeutiques de ses clients. L'objectif de cette thèse est donc d'analyser l'adsorption des anticorps monoclonaux et des agents tensioactifs aux interfaces de l'huile de silicone, et de développer des modèles mimant les surfaces des seringues au laboratoire avec une haute cadence d'analyse et un faible volume d'échantillon. Ces protocoles d'étude des modèles de surface visent à fournir des informations sur la stabilité de la couche d'huile de silicone et sur l'adsorption des formulations sur le verre siliconé.

Tout d'abord, une étude de stabilité d'un an des seringues a été lancée à BD avec quatre formulations différentes contenant du Trastuzumab dans un tampon composé d'histidine avec du Polysorbate 80 ou du Poloxamer 188 comme référence à comparer aux résultats des modèles. Au cours de cette étude, les performances des seringues, l'adsorption des protéines et leur dégradation ont été déterminées par des tests de forces d'injection, d'angle de contact, d'imagerie des particules, de diffusion dynamique de la lumière et de chromatographie d'exclusion de taille.

En parallèle de l'étude mentionnée ci-dessus, des modèles de surface de seringues ont été développés pour évaluer à la fois la dégradation de la couche d'huile de silicone et l'adsorption des anticorps monoclonaux en présence de formulations similaires. Deux dispositifs ont été sélectionnés pour ce projet selon les critères mentionnés précédemment : la plaque 96 puits à fond en verre siliconé et les quartz recouverts de verre siliconé de la microbalance à cristal de quartz avec mesure de la dissipation (QCM-d).

Sacha G, Rogers JA, Miller RL. Pre-filled syringes: A review of the history, manufacturing and challenges. *Pharm Dev Technol.* 2015;20(1):1-11. doi:10.3109/10837450.2014.982825

2. Jagschies G. *Selected Biotherapeutics Overview*. Elsevier Ltd.; 2018. doi:10.1016/B978-0-08-100623-8.00003-7
3. Kannan A, Shieh IC, Negulescu PG, Chandran Suja V, Fuller GG. Adsorption and Aggregation of Monoclonal Antibodies at Silicone Oil-Water Interfaces. *Mol Pharm.* 2021;18(4):1656-1665. doi:10.1021/acs.molpharmaceut.0c01113
4. Zhang Z, Marie Woys A, Hong K, et al. Adsorption of non-ionic surfactant and monoclonal antibody on siliconized surface studied by neutron reflectometry. *J Colloid Interface Sci.* 2021;584:429-438. doi:10.1016/j.jcis.2020.09.110
5. Dandekar R, Ardekani AM. Monoclonal Antibody Aggregation near Silicone Oil-Water Interfaces. *Langmuir.* 2021;37(4):1386-1398. doi:10.1021/ACS.LANGMUIR.0C02785/ASSET/IMAGES/LARGE/LA0C02785_0010.JPEG

Abstract

Glass pre-filled syringes¹ (PFS) are widely used in clinical medicine for injections of various biotherapeutic formulations² such as vaccine, or intravenous therapy considering their accuracy and ease of use. Becton Dickinson (BD) proposes different syringe types to its customers but choosing the right syringe for a given formulation can be a challenge, due to the potential complex interaction of molecules and materials in PFS during their storage and the administration of the drug to the patient.

On one hand, novel formulations are composed of sensitive proteins that are stabilized and protected from interface adsorption by surfactants. On the other hand, glass PFS are siliconized to guarantee its gliding performances and ensure the injectability of the drug. This hydrophobic layer is a preferential adsorption site for proteins and surfactants, that may affect the biotherapeutic, lead to a release of silicone oil into the solution and entail injectability issues³⁻⁵.

Consequently, it is preferable to study the compatibility of each medicine-syringe combined product. Yet, such stability studies can be long, ideally covering the expected shelf life of the product. They are costly as therapeutic formulations are expensive and reproducibility is based on many replicates. Additionally, the syringe cylindrical shape does not allow direct standard measuring methods and therefore needs time-consuming sample preparation.

BD's interest is to understand the mechanisms that drive molecular adsorption phenomena at the silicon oil-liquid interface and to leverage this knowledge to provide scientific guidance in the choice of the best PFS for the therapeutic formulations of its customers. The objective of this thesis is therefore to analyze monoclonal antibody and surfactant adsorption at silicone interfaces and to develop high throughput and low sample volume requiring lab mimetic syringe models. These syringe-mimetic protocols aim to give information on the stability of the silicone oil layer and on the adsorption of formulations on siliconized glass.

Firstly, a one-year syringe stability study was launched at BD with 4 different formulations containing Trastuzumab in a histidine buffer with Polysorbate 80 or Poloxamer 188 as a reference to be compared with models results. During this study, syringes performances, protein adsorption and degradation were determined by injection forces test, water contact angle, particles imaging, dynamic light scattering and size exclusion chromatography.

Secondly in parallel of the study mentioned upwards, lab mimetic syringe models were developed to assess both silicone oil layer degradation and mAb adsorption in presence of similar formulation parameters. Two devices were selected for this project according to the criteria mentioned previously: the 96 well plate approach and the surface sensors of Quartz Crystal microbalance with Dissipation monitoring (QCM-d) both coated with silicone oil.

1. Sacha G, Rogers JA, Miller RL. Pre-filled syringes: A review of the history, manufacturing and challenges. *Pharm Dev Technol.* 2015;20(1):1-11. doi:10.3109/10837450.2014.982825
2. Jagschies G. *Selected Biotherapeutics Overview*. Elsevier Ltd.; 2018. doi:10.1016/B978-0-08-100623-8.00003-7
3. Kannan A, Shieh IC, Negulescu PG, Chandran Suja V, Fuller GG. Adsorption and Aggregation of Monoclonal Antibodies at Silicone Oil-Water Interfaces. *Mol Pharm.* 2021;18(4):1656-1665. doi:10.1021/acs.molpharmaceut.0c01113
4. Zhang Z, Marie Woys A, Hong K, et al. Adsorption of non-ionic surfactant and monoclonal antibody on siliconized surface studied by neutron reflectometry. *J Colloid Interface Sci.* 2021;584:429-438. doi:10.1016/j.jcis.2020.09.110
5. Dandekar R, Ardekani AM. Monoclonal Antibody Aggregation near Silicone Oil-Water Interfaces. *Langmuir.* 2021;37(4):1386-1398. doi:10.1021/ACS.LANGMUIR.0C02785/ASSET/IMAGES/LARGE/LA0C02785_0010.JPEG