

(19)



URZĄD  
PATENTOWY  
RZECZYPOSPOLITEJ  
POLSKIEJ

(10) **PL 247411 B1**

(12)

## Opis patentowy

(21) Numer zgłoszenia: **442345**

(22) Data zgłoszenia: **2022.09.22**

(43) Data publikacji o zgłoszeniu: **2024.03.25 BUP 13/2024**

(45) Data publikacji o udzieleniu patentu: **2025.06.30 WUP 26/2025**

(51) MKP:

**A61K 47/58** (2017.01)

**A61K 31/431** (2006.01)

**A61K 31/575** (2006.01)

**A61P 31/04** (2006.01)

(73) Uprawniony z patentu:

**POLITECHNIKA ŚLĄSKA, Gliwice, PL**

(72) Twórca(-y) wynalazku:

**DOROTA NEUGEBAUER, Zabrze, PL**

**KATARZYNA NIESYTO, Świerczyniec, PL**

**ALEKSY MAZUR, Rybnik, PL**

(74) Pełnomocnik:

**rzecz. pat. Katarzyna Borkowy, Gliwice, PL**

(54) Tytuł:

**Sposób otrzymywania koniugatów jonowych oraz ich zastosowanie**

**PL 247411 B1**

## Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest sposób otrzymywania koniugatów jonowych oraz ich zastosowanie, w farmakologii i medycynie w terapii przeciwbakteryjnej.

Z literatury niepatentowej Egorova, K. S., Gordeev, E. G., Anartikov, V. P. *Biological Activity of Ionic Liquids and Their Application in Pharmaceuticals and Medicine*. *Chem. Rev.* 2017, 117(10), 7132–7189) znane są cieczki jonowe, mające zastosowanie w medycynie, które ze względu na występowanie w fazie ciekłej w temperaturze pokojowej, stabilność chemiczną i termiczną oraz biokompatybilność są obecnie przedmiotem badań interdyscyplinarnych. Problemem medycyny i farmakologii podczas stosowania większości leków jest ich ograniczona rozpuszczalność oraz biodostępność. Jednym z powszechnych sposobów zwiększenia biodostępności leków jest ich przekształcenie w sól poprzez biofunkcjonalizację cieczy jonowych (Shamshina, J. L., Kelley, S. P., Gurau, G., Rogers, R. D. *Chemistry: Develop ionic liquid drugs*. *Nature*, 2015, 528(7581), 188–189). Związanie leku z cieczkami jonowymi jest możliwe poprzez wiązanie kowalencyjne bądź jonowe. Biofunkcjonalizacja cieczy jonowych poprzez zastosowanie wiązań jonowych jest dogodną drogą dzięki możliwości zastosowania szerokiej gamy cieczy jonowych jak i przeciwjonów (Md Moshikur, R., Chowdhury, M. R., Moniruzzaman, M., Goto, M. *Biocompatible ionic liquids and their application in pharmaceuticals*. *Green Chem.* 2020, 22, 8116–8139).

Dotychczasowe doniesienia na temat przygotowania małocząsteczkowych nośników na bazie cieczy jonowych, wskazują na układy imidazoliowe, fosfoniowe, lidokainowe, amoniowe, pirydyniowe i cholinowe, które poddano biofunkcjonalizacji różnymi aktywnymi jonami farmaceutycznymi, między innymi z przeciwjonami; ibuprofenowym (Viau, L., Tourné-Péteilh, C., Devoisselle, J.-M., Vioux, A. *Ionogels as drug delivery system: one-step sol-gel synthesis using imidazolium ibuprofenate ionic liquid*, *Chem. Commun.* 2010, 46(2), 228–230; Bica, K., Rodriguez, H., Gurau, G., Andreea Cjocar, O., Riisager, A., Fehrmann, R., Rogers, R. D. *Pharmaceutically active ionic liquids with solids handling, enhanced thermal stability, and fast release*. *Chem. Commun.* 2012, 48(44), 5422), ampicilinowym (Ferreira, R., Branco, L., Marrucho, I., Araújo, J., Rebelo, L., da Ponte, M., Prudencio, C., Noronha, J., Petrovski, Ž. *Development of novel ionic liquids based on ampicillin*. *Med. Chem. Commun.* 2012, 3(4), 494), salicylanowym (Bica, K., Rijkse, C., Nieuwenhuyzen, M., Rogers, R. *In search of pure liquid salt forms of aspirin: ionic liquid approaches with acetylsalicylic acid and salicylic acid*. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2010, 12(8), 2011), pochodnych kwasu nalidyksowego, niflumowego, pirazynowego i pikolinowego (Araújo, J.M.M., Florindo, C., Pereira, A. B., Vieira, N. S. M., Matias, A. A., Duarte, C. M. M., Rebelo, L., Marrucho, I. M. *Cholinium-based ionic liquids with pharmaceutically active anions*. *RSC Adv.* 2014, 4(53), 28126–28132). Zastosowanie polimeryzowalnych (monomerycznych) cieczy jonowych pozwala na uzyskanie wielocząsteczkowych nośników na bazie poli(cieczy jonowych) (Mancjkumar, K., Sivaramkrishna, A., & V.jayakrishna, K. *A short review on stable metal nanoparticles using ionic liquids, supported ionic liquids, and poly(ionic liquids)*. *J. Nanopart. Res.* 2016, 18(4), 103). Znane są koniugaty oparte na poli(cieczkach jonowych), które powstały w wyniku modyfikacji otrzymanego polimeru poprzez wprowadzenie anionów leków przeciwwzapalnych, w tym antybiotyków  $\beta$ -laktamowych np. wspomnianego już anionu ampicilinowego (Gorbunova, M.; Lemkina, L.; Borisova, I. *New guanidine-containing polyelectrolytes as advanced antibacterial materials*. *Eur. Polym. J.* 2018, 105, 426–433) lub piperacyliny (Niesyto, K.; Neugebauer, D. *Linear Copolymers Based on Choline Ionic Liquid Carrying Anti-Tuberculosis Drugs: Influence of Anion Type on Physicochemical Properties and Drug Release*. *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 22, 284), oraz sulfacetamidu (Bielas, R., Siewniak, A., Skonieczna, M., Adamiec, M., Mielańczyk, Ł., Neugebauer, D. *Choline based polymethacrylate matrix with pharmaceutical cations as co-delivery system for antibacterial and anti-inflammatory combined therapy*. *J. Mol. Liq.* 2019, 285, 114–122), klawulianianu i *p*-aminosalicylanu (Niesyto K., Neugebauer D. *Synthesis and Characterization of Ionic Graft Copolymers: Introduction and In Vitro Release of Antibacterial Drug by Anion Exchange*. *Polymers*, 2020, 12, 2159–2171). Z kolei obecność startowej jednostki amoniowej cieczy jonowej w łańcuchu polilaktydu umożliwiło wprowadzenie kwasu mefenamowego (Halayqa, M., Zawadzki, M., Domańska, U., Plichta, A. *Polymer – Ionic liquid – Pharmaceutical conjugates as drug delivery systems*. *J. Mol. Struct.* 2019, 1180, 573–584). Innym podejściem jest biofunkcjonalizacja monomerycznej cieczy jonowej odpowiednim przeciwjonem farmaceutycznym, którą w dalszym etapie poddaje się reakcji polimeryzacji. W ten sposób otrzymano trimetyloamoniowe poli(cieczki jonowe) do transportu kwasu salicylowego (Bielas, R., Łukowiec, D., Neugebauer, D. *Drug delivery via anion exchange of salicylate decorating poly(meth)acrylates based on a pharmaceutical ionic liquid*. *New J. Chem.*, 2017, 41(21),

12801–12807; Bielas, R., Mielańczyk, A., Siewniak, A., Neugebauer, D. *Trimethylammonium-Based Polymethacrylate Ionic Liquids with Tunable Hydrophilicity and Charge Distribution as Carriers of Salicylate Anions*. *ACS Sustain. Chem. Eng.*, 2016, 4(8), 4181–4191). Ponadto, aniony salicylanowe wprowadzone w formie polimeryzowalnej cieczy jonowej były również transportowane przez kopolimery szczepione (Bielas, R.; Mielańczyk, A.; Skonieczna, M.; Mielańczyk, L.; Neugebauer, D. *Choline supported poly(ionic liquid) graft copolymers as novel delivery systems of anionic pharmaceuticals for anti-inflammatory and anticoagulant therapy*. *Sci. Rep.*, 2019, 9, 11410).

Dzięki wstępnemu projektowaniu układów dostarczania leków możliwe jest planowanie i regulowanie ich właściwości w zależności od potrzeb terapeutycznych. Wiele konwencjonalnych sposobów przenoszenia związków biologicznie aktywnych w nośnikach można wykorzystać do otrzymywania systemów współdostarczania leków celem zapewnienia synergistycznego działania leków i poprawy skuteczności leczenia (Amer Ridha, A., Kashanian, S., Rafipour, R., Hemati Azandaryani, A., Zhaleh, H., Mahdavian, E. *A promising dual-drug targeted delivery system in cancer therapy: nanocomplexes of folate–apoferritin-conjugated cationic solid lipid nanoparticles*. *Pharm. Dev. Technol.* 2021 26(6), 673–681.; Liu, G., Yang, L., Chen, G., Xu, F., Yang, F., Yu, H., Li, L., Dong, X., Han, J., Cao, C., Qi, J., Su, J., Xu, X., Li, X., Li, B. *A Review on Drug Delivery System for Tumor Therapy*. *Front. Pharmacol* 2021, 12, 735446; Xiao, Y., Gao, Y., Li, F., Deng, Z. *Combinational dual drug delivery system to enhance the care and treatment of gastric cancer patients*. *Drug Deliv.* 2020, 27(1), 1491–1500). Taką strategię stosuje się w szczególności w przypadku leczenia nowotworów bądź chorób wywołanych szczepami lekoopornymi, gdzie zwykle kojarzone terapeutyki są koniugowane i/lub enkapsulowane. W ten sposób zaprojektowano i następnie badano koniugaty jonowe na bazie amfifilowych kopolimerów liniowych opartych na cholinowej cieczy jonowej pod kątem dostarczania przeciwzapalnych leków jonowych, tj. salicylanu lub sulfacetamidu, a dzięki zdolności do samoorganizacji przeprowadzono enkapsulację drugiego leku: erytromycyny, indometacyny lub kwercetyny (Bielas, R., Siewniak, A., Skonieczna, M., Adamiec, M., Mielańczyk, Ł., Neugebauer, D. *Choline based polymethacrylate matrix with pharmaceutical cations as co-delivery system for antibacterial and anti-inflammatory combined therapy* *J. Mol. Liq.*, 2019, 285, 114–122). Współdostarczanie dotyczyło również analogicznych układów na bazie szczepionych poli(cieczy jonowych), które były wykorzystane do transportu leków przeciwbakteryjnych, tj. fusydanu w formie przeciwjonu wprowadzanego do polimeru oraz niejonowej rifampicyny, która była ładowana do wnętrza miceli (Niesyto K., Mazur A., Neugebauer D. *Dual delivery via the self-assembled conjugates of choline-functionalized graft copolymers*. *Materials* 2022, 15(13), 4457).

Dotychczas brak jest doniesień na temat otrzymywania kopolimerów szczepionych do jednoczesnego efektywnego transportu dwóch różnych leków w formie jonowej w oparciu o monomeryczne cieczy jonowe biofunkcjonalizowane anionami farmaceutycznymi, co uzasadnia podjęte badania w zakresie syntezy innowacyjnych układów bioaktywnych. Tego typu kopolimery mogą być stosowane jako nośniki leków przeciwbakteryjnych o szerokim spektrum działania, aby zapobiec efektowi lekooporności, jak również można je łączyć z lekami przeciwzapalnymi w celu zwiększenia efektu terapeutycznego.

Obecnie w leczeniu zakażeń bakteryjnych stosuje się dostępny na rynku preparat handlowy na bazie kloksacyliny o aktywności przeciwgronkowcowej (Syntarpen), którą można podawać wraz z kwasem fusydowym (Fucidin®) w celu zintensyfikowania wzajemnego działania obydwu tych terapeutyków ze względu na wykazany efekt synergiczny. Preparat zawierający jednocześnie kloksacylinę i fusydan nie jest dostępny handlowo.

Zagadnieniem technicznym wymagającym rozwiązania jest opracowanie sposobu otrzymywania innowacyjnych koniugatów jonowych opartych na szczepionych polimetakrylanach syntezowanych z udziałem monomerycznych cieczy jonowych funkcjonalizowanych anionami farmaceutycznymi ( $X^-$ ,  $Y^-$ ) o działaniu przeciwbakteryjnym.

Cel ten osiągnięto poprzez przeprowadzenie polimeryzacji „szczepienia z” makroinicjatora wielofunkcyjnego z użyciem metakrylanu 2-trimetyloamoniouetylu biofunkcjonalizowanego anionem fusydanu ( $X^-$ ) lub kloksacyliny ( $Y^-$ ) oraz ich kopolimeryzacji w celu uzyskania układu podwójnie bioaktywnego ( $X^-/Y^-$ ).

Sposób otrzymywania koniugatów jonowych na bazie kopolimerów szczepionych polega na tym, że proces przebiega w dwóch etapach, gdzie w pierwszym etapie chlorek metakrylanu 2-trimetyloamoniouetylu w ilości od 0,01 g do 5 g rozpuszcza się w od 2 do 8-krotnym nadmiarze (w/v) rozpuszczalnika, przy czym w tym samym czasie sól leku, fusydan lub kloksacylina w ilości od 0,02 g do 13 g, rozpuszcza się w od 2 do 8-krotnym nadmiarze (w/v) rozpuszczalnika, otrzymany roztwór wkrapla się do roztworu

chlorku metakrylanu 2-trimetyloamoniocyjenu, gdzie stosunek molowy soli leku do chlorku metakrylanu 2-trimetyloamoniocyjenu mieści się w zakresie od 1:1 do 1,2:1, miesza się w czasie od 1 h do 48 h, a kryształy wytrąconej soli odsącza i przemywa rozpuszczalnikiem, suszy w próżni do otrzymania stałego produktu, stanowiącego monomer 1 z przeciwjonem fusydanowym i monomer 1 z przeciwjonem kloksacylinowym, w drugim etapie reakcji, otrzymany monomer 1 z przeciwjonem fusydanowym i/lub monomer 1 z przeciwjonem kloksacylinowym w ilości 0,1 g do 2 g, miesza się z metakrylanem metylu w ilości 0,01 ml do 1 ml, a następnie rozpuszcza w rozpuszczalniku polarnym, korzystnie metanolu w ilości 0,1 ml do 4 ml oraz rozpuszczalniku niepolarnym, korzystnie tetrahydrofuranie w ilości 0,1 ml do 4 ml, dodaje się ligand w ilości 0,0004 g do 0,02 g oraz makroinicjator wielofunkcyjny w ilości 0,001 g do 0,2 g miesza w atmosferze gazu obojętnego, korzystnie argonu, otrzymaną mieszaninę odgazowuje się przez trzy cykle wymrażania w ciekłym azocie, po czym dodaje się katalizator, korzystnie chlorek miedzi (I) w ilości od 0,0004 g do 0,02 g, przy czym stosunek molowy katalizatora do makroinicjatora wielofunkcyjnego mieści się w zakresie od 1:1 do 2:1, reakcję prowadzi się w temperaturze od 25°C do 40°C, w czasie 1 h do 24 h, następnie oczyszcza z katalizatora przepuszczając roztwór przez kolumnę tlenku glinu, produkt będący koniugatem jonowym wytrąca się w niepolarnym rozpuszczalniku, bądź mieszaninie rozpuszczalników polarnego i niepolarnego, korzystnie mieszanina eteru dietylowego i tetrahydrofuranu w stosunku objętościowym eteru dietylowego do tetrahydrofuranu 1:1,5, wytrącony produkt suszy się w próżni.

Korzystnie w sposobie otrzymywania koniugatów według wynalazku jako sól leku, stosuje się sole sodowe lub potasowe kloksacyliny i/lub sole sodowe lub potasowe kwasu fusydanowego.

Korzystnie w sposobie otrzymywania koniugatów według wynalazku jako rozpuszczalnik polarny stosuje się wodę, alkohol metylowy, alkohol etylowy.

Korzystnie w sposobie otrzymywania koniugatów według wynalazku stosunek molowy monomeru 1 z jonem fusydanowym i/lub monomeru 1 z jonem kloksacylinowym do metakrylanu metylu wynosi 25:75 lub 50:50.

Korzystnie w sposobie otrzymywania koniugatów według wynalazku stosunek objętościowo/wagowy rozpuszczalnika polarnego do monomeru 1 z jonem fusydanowym i/lub monomeru 1 z jonem kloksacylinowym wynosi 1:1 do 2:1, a stosunek rozpuszczalnika niepolarnego do rozpuszczalnika polarnego wynosi 1:1 do 2:1.

Korzystnie w sposobie otrzymywania koniugatów według wynalazku jako makroinicjator wielofunkcyjny stosuje się kopolimer metakrylanu metylu i metakrylanu 2-(2-bromoizobutyryloksy)etylu o wzorze ogólnym P(MMA-co-BIEM), przy czym stosunek molowy metakrylanu metylu do metakrylanu 2-(2-bromoizobutyryloksy)etylu wynosi odpowiednio 25:75, 50:50 lub 75:25.

Korzystnie w sposobie otrzymywania koniugatów według wynalazku jako ligand stosuje się związki azotu tworzące trwałe kompleksy z katalizatorem, takie jak: 1,1,4,7,10,10-heksametylotrietylenotetraamina (HMTETA), 2,2'-bipirydyna (bpy), 4,4'-dinonylo-2,2'-bipirydyna (dNbp), N,N,N',N',N''-pentametylodietylenotriamina (PMDTA), tris[2-(dimetyloamino)etyleno]amina (Me<sub>6</sub>TREN).

Korzystnie w sposobie otrzymywania koniugatów według wynalazku jako katalizator stosuje się związki miedzi: bromek miedzi (I) lub chlorek miedzi (I).

Korzystnie w sposobie otrzymywania koniugatów według wynalazku stosunek molowy ligandu do katalizatora mieści się w zakresie od 1:1 do 2:1.

Koniugat jonowy na bazie polimerów szczepionych otrzymany sposobem określonym powyżej ma zastosowanie w leczeniu zakażeń bakteryjnych, do współdostarczania leków o aktywności przeciwbakteryjnej.

Przedmiot wynalazku przedstawiono w poniższych przykładach wykonania.

**Przykład 1.** Otrzymywanie monomeru biofunkcjonalizowanego anionem fusydanowym TMAMA<sup>-</sup> X<sup>-</sup>.

Sól sodową fusydanu w ilości 0,5 g rozpuszczono w 5-krotnym nadmiarze (w/v) metanolu (2,5 ml). Następnie w osobnym naczyniu monomer chlorek metakrylanu 2-trimetyloamoniocyjenu w ilości 0,2 g rozpuszczono w 5-krotnym nadmiarze (w/v) metanolu (1 ml). Roztwór z lekiem wkroplono do roztworu monomeru i mieszało przez 2 godziny w temperaturze pokojowej. Po zakończeniu procesu wymiany jonowej, kryształy wytrąconego chlorku sodu odsączono. Osad dwukrotnie przemyto metanolem. Następnie odparowano metanol z przesączu, po czym suszono pod próżnią do uzyskania stałego produktu. Otrzymany fusydan metakrylanu 2-trimetyloamoniocyjenu zastosowano jako monomer w reakcji polimeryzacji techniką „szczepienia z”.

Przykład 2. Otrzymywanie kopolimeru szczepionego poprzez polimeryzację TMAMA<sub>X</sub><sup>-</sup>.

W reaktorze Schlenka umieszczono fusydan metakrylanu 2-trimetyloamoniocytylu (0,43 g), metakrylan metylu (0,2 mL), metanol (0,86 mL), tetrahydrofuran (0,86 mL), ligand 2,2'-bipirydynę (bpy) (0,0039 g) oraz makroinicjator wielofunkcyjny P(MMA-co-BIEM) (0,0131 g) w atmosferze gazu obojętnego. Mieszaninę odgazowano poprzez trzy cykle wymrażania w ciekłym azocie. Kolejno dodano katalizator CuCl (0,0019 g) w atmosferze gazu obojętnego. Reakcję prowadzono w temperaturze 40°C przez 4 godziny. Reakcję zakończono przez wystawienie mieszaniny reakcyjnej na działanie powietrza. Następnie mieszaninę oczyszczono z katalizatora przepuszczając roztwór przez kolumnę z tlenku glinu. Polimer wytrącono w mieszaninie THF-eter dietylowy, a następnie wysuszono pod próżnią do uzyskania stałego produktu.

Przykład 3. Otrzymywanie monomeru biofunkcjonalizowanego anionem kloksacylinowym TMAMA<sub>Y</sub><sup>-</sup>.

Sól sodowa kloksacyliny w ilości 0,35 g rozpuszczono w 5-krotnym nadmiarze (w/v) metanolu (1,75 ml). Następnie w osobnym naczyniu monomer chlorek metakrylanu 2-trimetyloamoniocytylu w ilości 0,8 g rozpuszczono w 5-krotnym nadmiarze (w/v) metanolu (4 ml). Roztwór z lekiem wkroplono do roztworu monomeru i mieszano przez 2 godziny w temperaturze pokojowej. Po zakończeniu procesu wymiany jonowej, kryształy wytrąconego chlorku sodu odsączono. Osad dwukrotnie przemyto metanolem. Następnie odparowano metanol z przesączu, po czym suszono pod próżnią do uzyskania stałego produktu. Otrzymany kloksacylinian metakrylanu 2-trimetyloamoniocytylu zastosowano jako monomer w reakcji polimeryzacji techniką „szczepienia z”.

Przykład 4. Otrzymywanie kopolimeru szczepionego poprzez polimeryzację TMAMA<sub>Y</sub><sup>-</sup>.

W reaktorze Schlenka umieszczono kloksacylinian metakrylanu 2-trimetyloamoniocytylu (0,59 g), metakrylan metylu (0,3 mL), metanol (0,59 mL), tetrahydrofuran (0,59 mL), ligand 2,2'-bipirydynę (bpy) (0,0061 g) oraz makroinicjator wielofunkcyjny P(MMA-co-BIEM) (0,0203 g) w atmosferze gazu obojętnego. Mieszaninę odgazowano poprzez trzy cykle wymrażania w ciekłym azocie. Kolejno dodano katalizator CuCl (0,0029 g) w atmosferze gazu obojętnego. Reakcję prowadzono w temperaturze 40°C przez 2 godziny. Reakcję zakończono przez wystawienie mieszaniny reakcyjnej na działanie powietrza. Następnie mieszaninę oczyszczono z katalizatora przepuszczając roztwór przez kolumnę z tlenku glinu. Polimer wytrącono w mieszaninie THF-eter dietylowy, a następnie wysuszono pod próżnią do uzyskania stałego produktu.

Przykład 5. Otrzymywanie kopolimeru szczepionego poprzez kopolimeryzację TMAMA<sub>X</sub><sup>-</sup> i TMAMA<sub>Y</sub><sup>-</sup>.

W reaktorze Schlenka umieszczono fusydan metakrylanu 2-trimetyloamoniocytylu (0,25 g), kloksacylinian metakrylanu 2-trimetyloamoniocytylu (0,22 g), metakrylan metylu (0,23 mL), metanol (0,94 mL), tetrahydrofuran (0,94 mL), ligand 2,2'-bipirydynę (bpy) (0,0045 g) oraz makroinicjator wielofunkcyjny P(MMA-co-BIEM) (0,015 g) w atmosferze gazu obojętnego. Mieszaninę odgazowano poprzez trzy cykle wymrażania w ciekłym azocie. Kolejno dodano katalizator CuCl (0,0022 g) w atmosferze gazu obojętnego. Reakcję prowadzono w temperaturze 40°C przez 4 godziny. Reakcję zakończono przez wystawienie mieszaniny reakcyjnej na działanie powietrza. Następnie mieszaninę oczyszczono z katalizatora przepuszczając roztwór przez kolumnę z tlenku glinu. Polimer wytrącono w mieszaninie THF-eter dietylowy, a następnie wysuszono pod próżnią do uzyskania stałego produktu.

Przykład 6. Badania *in vitro* uwalniania leków dla systemu podwójnego na bazie koniugatów z fusydanem i kloksacyliną.

Systemy współdostarczania na bazie koniugatów z fusydanem i kloksacyliną rozpuszczono w soli fizjologicznej buforowanej fosforanami (PBS, pH=7,4) w celu utworzenia roztworu o stężeniu 1 mg/ml. Roztwór 1 ml układu polimerowego umieszczono w szczelnie zamkniętej membranie dializacyjnej (MWCO = 3,5 kDa), następnie przeniesiono do fiolki wypełnionej 44 mL soli fizjologicznej buforowanej fosforanami. Proces uwalniania prowadzono w temperaturze 37°C przy ciągłym mieszaniu. W trakcie badania pobierano próbki o objętości 0,5 mL w 15–30 minutowych odstępach czasu, po czym mieszano pobraną próbkę z 0,5 ml metanolu i mierzono absorbancję uwolnionych leków za pomocą metody UV-Vis (spektrometr UV-Vis, Evolution 300, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Po czasie 50 godzin zostało uwolnione 22,8% (2,0 µg/ml) fusydanu i 30,1% (2,2 µg/ml) kloksacyliny.

Tabela 1. Charakterystyka kopolimerów szczepionych otrzymanych z udziałem monomerycznych cieczy jonowych z przeciwjonami farmaceutycznymi

Polimer szczepiony	Konwersja monomerów(%)		Stopień polimeryzacji łańcuchów bocznych	M <sub>n</sub> kopolimeru szczepionego (g/mol)	Fracja jonowa (mol. %)
	TMAMA	MMA			
1_X <sup>-</sup>	50	17	26	517 100	50
2_Y <sup>-</sup>	33	47	43	433 600	19
3_X <sup>-</sup> /Y <sup>-</sup>	25	20	21	283 500	29

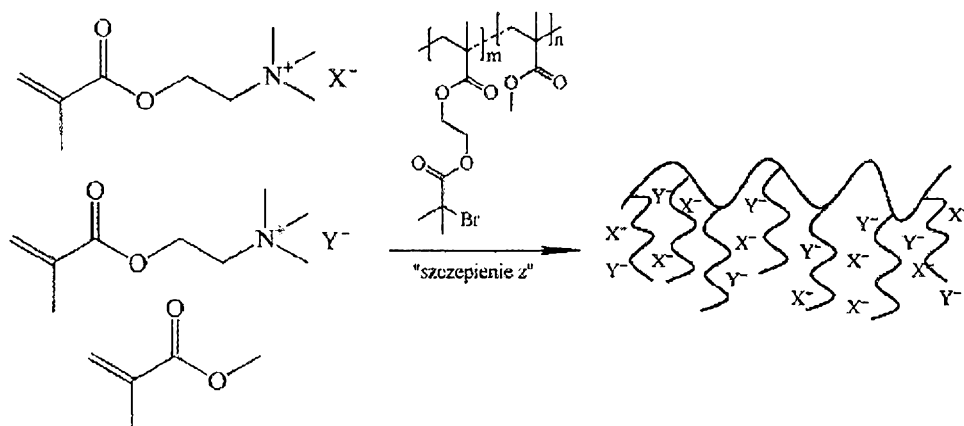
Wszystkie kopolimery szczepione przedstawione na Schemacie 1 otrzymano z wykorzystaniem kontrolowanej polimeryzacji rodnikowej z przeniesieniem atomu poprzez reakcję „szczepienia z” makroinicjatora wielofunkcyjnego, którym był kopolimer liniowy metakrylanu metylu i metakrylanu 2-(2-bromozobutyryloksy)etylu o wzorze ogólnym P(MMA-co-BIEM) (M<sub>n</sub> = 25300 g/mol, stopień polimeryzacji 165, zawartość jednostek inicjujących 29%). Ta metoda polimeryzacji, dzięki możliwości doboru odpowiednich reagentów, prowadzi do dobrze zdefiniowanych polimerów monodispersyjnych o określonym składzie i masie cząsteczkowej. Jako monomeryczne cieczy jonowe zastosowano metakrylany 2-trimetyloamoniocytylu biofunkcjonalizowane anionami farmaceutycznymi, które otrzymano poprzez reakcję wymiany jonowej anionu chlorkowego na anion farmaceutyczny soli sodowej. Technika „szczepienia z” gwarantuje wzrost łańcuchów bocznych w określonej ilości i o określonej długości, kontrolowanych odpowiednio poprzez ilość grup inicjujących w łańcuchu głównym i stopień konwersji monomeru, a tym samym możliwe jest wprowadzenie określonej zawartości frakcji jonowej, w tym anionów farmaceutycznych. Jedną strategią było otrzymanie nośnika polimerowego zdolnego do transportu jednego rodzaju leku, który wprowadzono poprzez monomeryczną ciecz jonową biofunkcjonalizowaną anionem farmaceutycznym, tj. fusydanu – fusydan metakrylanu 2-trimetyloamoniocytylu (TMAMA\_X<sup>-</sup>) bądź kloksacyliny – kloksacylinian metakrylanu 2-trimetyloamoniocytylu (TMAMA\_Y<sup>-</sup>), a następnie kopolimeryzowano z metakrylanem metylu. Drugim podejściem było przeprowadzenie kopolimeryzacji obydwu biofunkcjonalizowanych monomerycznych cieczy jonowych, tj. fusydanu metakrylanu 2-trimetyloamoniocytylu i kloksacylinianu metakrylanu 2-trimetyloamoniocytylu, z metakrylanem metylu. W rezultacie otrzymano innowacyjny koniugat polimer-lek zdolny do transportu dwóch leków w formie jonowej, tj. fusydanu (X<sup>-</sup>) i kloksacyliny (Y<sup>-</sup>). Przygotowane układy po umieszczeniu w roztworze soli fizjologicznej buforowanej fosforanami, imitującego płyn fizjologiczny, były zdolne do stopniowego współuwalniania obydwu leków, tj. fusydanu w 23% (2,0 µg/ml uwolnionego leku w czasie 50 godzin) i kloksacyliny w 30% (2,2 µg/ml uwolnionego leku w czasie 50 godzin). Zarówno ilość wprowadzonej, jak i uwolnionej pary związków farmaceutycznych, tj. fusydanu i kloksacyliny związanych jonowo świadczą o dużym potencjale aplikacyjnym otrzymanych układów współdostarczających. W związku z tym są obiecującymi nanosystemami, które z powodzeniem mogą być stosowane w celu zapewnienia synergistycznego zadziałania leków i poprawy skuteczności leczenia.

Zaletą rozwiązania według wynalazku jest możliwość dostrajania właściwości fizykochemicznych i kierunku działania układu polimerowego dzięki szerokiej gamie przeciwjonów. Kolejną zaletą jest możliwość wprowadzania anionu farmaceutycznego poprzez monomer, co pozwala na kontrolowanie zawartości frakcji bioaktywnej w transportującym ją nośniku polimerowym, a później uwalniania aktywnych związków farmaceutycznych w roztworach fizjologicznych. Tego typu koniugaty mogą znaleźć zastosowanie w leczeniu zakażeń i chorób o podłożu bakteryjnym. Układy skojarzone mogą być zastosowane jako specyfiki o szerokim spektrum działania, ze względu na obecność dwóch rodzajów leków w matrycy polimerowej. Swoistość przygotowanych układów polega na wykorzystaniu przygotowanych polimeryzowalnych cieczy jonowych biofunkcjonalizowanych związkiem farmaceutycznym o charakterze jonowym, a następnie ich polimeryzacji i uzyskaniu koniugatów na bazie kopolimerów szczepionych, zawierających jeden lub więcej leków anionowych.

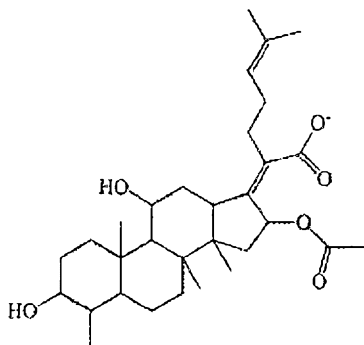
## Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób otrzymywania koniugatów jonowych na bazie kopolimerów szczepionych, **znamienny tym**, że proces przebiega w dwóch etapach, gdzie w pierwszym etapie chlorek metakrylanu 2-trimetyloamonioetylu w ilości od 0,01 g do 5 g rozpuszcza się w od 2 do 8-krotnym nadmiarze (w/v) rozpuszczalnika, przy czym w tym samym czasie sól leku, fusydan lub kloksacylina w ilości od 0,02 g do 13 g, rozpuszcza się w od 2 do 8-krotnym nadmiarze (w/v) rozpuszczalnika, otrzymany roztwór wkrapla się do roztworu chlorku metakrylanu 2-trimetyloamonioetylu, gdzie stosunek molowy soli leku do chlorku metakrylanu 2-trimetyloamonioetylu mieści się w zakresie od 1:1 do 1,2:1, miesza się w czasie od 1 h do 48 h, a kryształy wytrąconej soli odsąca i przemywa rozpuszczalnikiem, suszy w próżni do otrzymania stałego produktu, stanowiącego monomer 1 z przeciwjonem fusydanowym i monomer 1 z przeciwjonem kloksacylinowym, w drugim etapie reakcji, otrzymany monomer 1 z przeciwjonem fusydanowym i/lub monomer 1 z przeciwjonem kloksacylinowym w ilości 0,1 g do 2 g, miesza się z metakrylanem metylu w ilości 0,01 ml do 1 ml, a następnie rozpuszcza w rozpuszczalniku polarnym, korzystnie metanolu w ilości 0,1 ml do 4 ml oraz rozpuszczalniku niepolarnym, korzystnie tetrahydrofuranie w ilości 0,1 ml do 4 ml, dodaje się ligand w ilości 0,0004 g do 0,02 g oraz makroinicjator wielofunkcyjny w ilości 0,001 g do 0,2 g miesza w atmosferze gazu obojętnego, korzystnie argonu, otrzymaną mieszaninę odgazowuje się przez trzy cykle wymrażania w ciekłym azocie, po czym dodaje się katalizator, korzystnie chlorek miedzi (I) w ilości od 0,0004 g do 0,02 g, przy czym stosunek molowy katalizatora do makroinicjatora wielofunkcyjnego mieści się w zakresie od 1:1 do 2:1, reakcję prowadzi się w temperaturze od 25°C do 40°C, w czasie 1 h do 24 h, następnie oczyszcza z katalizatora przepuszczając roztwór przez kolumnę tlenku glinu, produkt będący koniugatem jonowym wytrąca się w niepolarnym rozpuszczalniku, bądź mieszaninie rozpuszczalników polarnego i niepolarnego, korzystnie mieszanina eteru dietylowego i tetrahydrofuranu w stosunku objętościowym eteru dietylowego do tetrahydrofuranu 1:1,5, wytrącony produkt suszy się w próżni.
2. Sposób otrzymywania koniugatów według zastrz. 1, **znamienny tym**, że jako sól leku, stosuje się sole sodowe lub potasowe kloksacyliny i/lub sole sodowe lub potasowe kwasu fusydogowego.
3. Sposób otrzymywania koniugatów według zastrz. 1, **znamienny tym**, że jako rozpuszczalnik polarny stosuje się wodę, alkohol metylowy, alkohol etylowy.
4. Sposób otrzymywania koniugatów według zastrz. 1, **znamienny tym**, że stosunek molowy monomeru 1 z jonem fusydanowym i/lub monomeru 1 z jonem kloksacylinowym do metakrylanu metylu wynosi 25:75 lub 50:50.
5. Sposób otrzymywania koniugatów według zastrz. 1, **znamienny tym**, że stosunek objętościowo/wagowy rozpuszczalnika polarnego do monomeru 1 z jonem fusydanowym i/lub monomeru 1 z jonem kloksacylinowym wynosi 1:1 do 2:1, a stosunek rozpuszczalnika niepolarnego do rozpuszczalnika polarnego wynosi 1:1 do 2:1.
6. Sposób otrzymywania koniugatów według zastrz. 1, **znamienny tym**, że jako makroinicjator wielofunkcyjny stosuje się kopolimer metakrylanu metylu i metakrylanu 2-(2-bromoizobutyryloksy)etylu o wzorze ogólnym P(MMA-co-BIEM), przy czym stosunek molowy metakrylanu metylu do metakrylanu 2-(2-bromoizobutyryloksy)etylu wynosi odpowiednio 25:75, 50:50 lub 75:25.
7. Sposób otrzymywania koniugatów według zastrz. 1, **znamienny tym**, że jako ligand stosuje się związki azotu tworzące trwałe kompleksy z katalizatorem, takie jak: 1,1,4,7,10,10-heksametylotrietylenotetraamina (HMTETA), 2,2'-bipirydyna (bpy), 4,4'-dinonylo-2,2'-bipirydyna (dNbpy), N,N,N',N'',N''-pentametylodietylenotriamina (PMDTA), tris[2-(dimetyloamino)etyleno]amina (Me<sub>6</sub>TREN).
8. Sposób otrzymywania koniugatów według zastrz. 1, **znamienny tym**, że jako katalizator stosuje się związki miedzi: bromek miedzi (I) lub chlorek miedzi (I).
9. Sposób otrzymywania koniugatów jonowych według zastrz. 1, **znamienny tym**, że stosunek molowy ligandu do katalizatora mieści się w zakresie od 1:1 do 2:1.
10. Koniugat jonowy na bazie polimerów szczepionych otrzymany sposobem według zastrz. 1 do zastosowania w leczeniu zakażeń bakteryjnych, do współdostarczania leków o aktywności przeciwbakteryjnej.

## Rysunek



Gdzie  $\text{X}^-$  to anion fusydanowy o wzorze:



Gdzie  $\text{Y}^-$  to anion kloksacylinowy o wzorze:

