

1. STRESZCZENIE W JĘZYKU POLSKIM

Chitynazy należą do 18. rodziny hydrolaz glikozydowych. Katalizują one reakcję hydrolizy wiązania β -1,4-glikozydowego w chitynie będącej składnikiem budulcowym m.in. pancerzy stawonogów, skorupiaków, owadów, nicieni oraz ścian komórkowych grzybów. Organizm ludzki wytwarza dwa enzymy hydrolizujące chitynę: kwaśną chitynazę ssaków (AMCase) i chitotriozydazę (CHIT1) oraz kilka białek chitynazopodobnych (YKL-40, YKL-39, owiduktynę, stabilinę-1), które nie mają aktywności enzymatycznej, ale posiadają zdolność wiązania oligocukrów. Biologiczna funkcja chitynaz w organizmie nie jest dokładnie poznana, jednak ich podwyższony poziom zaobserwowano u pacjentów z chorobami, których podłożem jest stan zapalny (astma, choroby zapalne jelit) i włóknienie tkanek (idiopatyczne włóknienie płuc, sarkoidoza, stłuszczeniowe zapalenie wątroby). W związku z tym, chitynazy stanowią obiecujący cel terapeutyczny w leczeniu powyższych chorób.

Celem mojej pracy doktorskiej było zaprojektowanie i synteza małowcząsteczkowych inhibitorów AMCase i CHIT1 o wysokiej aktywności oraz odpowiednim profilu farmakokinetycznym, a następnie zbadanie ich wpływu na przebieg indukowanego stanu chorobowego w zwierzęcych modelach chorób zapalnych i włóknieniowych.

W oparciu o strukturę małowcząsteczkowego inhibitora chitynaz odkrytego przez Cole i współpracowników, związku Wyeth 1, zaprojektowanych i zsyntetyzowanych zostało ponad 250 jego analogów. Spośród nich związek OAT-177 charakteryzuje się wysoką aktywnością wobec AMCase, związek OAT-2068 jest wysoce aktywnym inhibitorem CHIT1, zaś związek OAT-870 jest wysoce aktywnym i nieselektywnym inhibitorem obydwu chitynaz. Wszystkie trzy związki charakteryzują się odpowiednimi profilami farmakokinetycznymi, pozwalającymi na ich użycie w modelach zwierzęcych. Aktywność przeciwzapalna związków OAT-177 i OAT-870 została potwierdzona w mysim modelu astmy indukowanym roztoczą kurzu domowego. Aktywność przeciwwłóknieniowa związku OAT-2068 została potwierdzona w mysim modelu włóknienia płuc indukowanym bleomycyną. Dodatkowo, selektywny inhibitor AMCase OAT-177 został przebadany w modelach zapalenia jelita wywołanego DSS-em, w których wykazał również efekt przeciwzapalny. Otrzymane inhibitory AMCase i CHIT1 stanowią użyteczne narzędzie do badania roli chitynaz w modelach zwierzęcych chorób, w których obserwowany jest podwyższony ich poziom, co pozwoli na lepsze zrozumienie udziału tych enzymów w przebiegu procesu chorobowego. Związki te stanowią

również punkt wyjścia dla zaprojektowania potencjalnych leków użytecznych w terapii chorób zapalnych i włóknieniowych, których mechanizmem działania będzie hamowanie aktywności chitynaz.

2. STRESZCZENIE W JĘZYKU ANGIELSKIM (ABSTRACT IN ENGLISH)

Chitinases are proteins that belong to the evolutionary conserved 18 glycosyl hydrolase family. They catalyze degradation of chitin to N-acetylglucosamine by hydrolysis of the β -(1-4)-glycosidic bonds. Chitin is a component of crustaceans, insects, nematodes and fungal cell walls. Although mammals do not synthesize chitin, they express two enzymatically active chitinases: acidic mammalian chitinase (AMCase) and chitotriosidase (CHIT1), as well as several chitinase-like proteins (YKL-40, YKL-39, oviductin, stabilin-1). The latter lack enzymatic activity, but still display oligosaccharides-binding ability. The physiologic functions of chitinases are still unclear, but they have been shown to be involved in various human inflammatory and fibrotic disorders, particularly of the lung (idiopathic pulmonary fibrosis, chronic obstructive pulmonary disease, sarcoidosis and asthma) and the gastrointestinal tract (inflammatory bowel diseases, colon cancer).

The main goal of my work was the design and synthesis of small molecule chitinase inhibitors of AMCase and CHIT1 with high *in vitro* activity, good pharmacological characteristics and pharmacokinetic profile allowing their use in animal models of inflammatory and fibrotic diseases of the lungs and bowel.

Starting with the drug-like chitinase inhibitors published by Cole and al., over 250 novel compounds with 3,5-diaminotriazole moiety were designed and synthesized. Out of those, OAT-177 is a selective mAMCase inhibitor, OAT-2068 is a highly active and selective mCHIT1 inhibitor and OAT-870 is a potent and dual AMCase and CHIT1 inhibitor. All compounds possess excellent PK profiles allowing their use in animal models. Anti-inflammatory efficacy of OAT-177 and OAT-870 was confirmed in the house dust mite (HDM)-induced allergic airway inflammation model. Antifibrotic efficacy of OAT-2068 was proved in bleomycin-induced pulmonary fibrosis mouse model. In addition, the selective AMCase inhibitor OAT-177 was tested in the DSS-induced models of colitis, where it also showed an anti-inflammatory effect. The inhibitors of AMCase and CHIT1 are useful tools to study the role of chitinases in animal models of diseases in which their levels are elevated. Therefore, they will allow for a better understanding of the role of these enzymes in the course of the disease process. Of important note, these compounds are also the starting point for the design of potential drugs useful in the treatment of inflammatory and fibrotic diseases, the mechanism of action of which will be the inhibition of chitinase activity.