

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/20128> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Blad, Clara Catelijne

Title: A quest for connections : ligands for the HCA2, adenosine A3 and GPR88 receptors

Date: 2012-11-15

Nawoord

Het onderzoek voor dit proefschrift heeft zich op drie verschillende plekken afgespeeld. Om te beginnen met de ‚Leidse tijd‘: Ik wil Jaco en Ad graag als eersten noemen, die beiden een grote bijdrage hebben geleverd aan dit onderzoek. Jaco, jouw synthese-vaardigheden en chemisch inzicht hebben veel mooie stofjes opgeleverd, en vooral de allosterische modulators zullen in de literatuur voortleven. Al onze discussies over HCA₂ hebben ook geweldig geholpen. Ad, je bent al sinds mijn derde BFW-jaar een mentor voor mij, en hebt me op wetenschappelijk en persoonlijk vlak geadviseerd, gemotiveerd, en uitgedaagd. Onze gedeelde belangstelling voor klassieke muziek heeft ook mooie momenten opgeleverd. Hartelijk dank voor alle steun en vertrouwen. Mijn kantoorgenoten, Miriam, Henk, Elisabeth, Annelien en Ann, jullie zorgden voor een gezellige sfeer, leuke discussies, en stonden altijd klaar om te helpen. Miriam, onze (soms lange) gesprekken over alle aspecten van het AIO-schap waren naar mijn idee zeker geen verloren tijd! Met jou als paranimf kan ik tijdens de verdediging met een gerust hart flauwvallen. Henk, aan jouw analytische vermogens heeft het niet gelegen dat we geen endogeen IPA hebben gevonden! Mijn studenten, Margot, Maha, Laurens, Lucienne en Maarten, jullie hebben allemaal je bijdrage geleverd aan het bestuderen van HCA₂. Het was erg leuk om met jullie samen te werken en ik hoop dat het net zo leerzaam was voor jullie als voor mij. De studenten die met Jaco liganden hebben gesynthetiseerd voor het HCA₂ project moeten hier natuurlijk ook genoemd worden, net als Marysa die HCA₂ in silico heeft bestudeerd. Rob, thank you for giving me a ‚jumpstart‘ at the beginning of the project, and for your help and suggestions. Munikumar en Gerard hebben onder andere in silico teststofjes geselecteerd en de (allosterische) bindingsplek van HCA₂ voorspeld. Eigenlijk jammer dat we uiteindelijk niet meer bio/chem-informatics hebben kunnen koppelen aan dit project, dat zou interessant zijn geweest! Thea, jij hebt snel en vakkundig data gegenereerd voor het verhaal over de A₃ receptor. Outside our Medicinal Chemistry group, contributions to this thesis came from the division of Biopharmacy (especially Zhaosha and Menno), from Canfit BioPharma (Sara Bar-Yehuda and Pnina Fishman), from MPI Bad Nauheim (Stefan, Sorin and Julien), and from our sister group at Amsterdam University (especially Meritxell). Thank you all for inspiring collaborations, sound advice and excellent work! Margot, jij hebt me tijdens mijn eerste stages enthousiast gemaakt voor het GPCR-onderzoek, en zonder jou waren we hier misschien niet geweest. Jouw input was ook onmisbaar voor TI-Pharma, en dat *Public-private partnership* was verantwoordelijk voor de financiële ondersteuning van mijn werk. Helen en collega’s van de ‚keuken‘ hebben mijn leven praktisch gezien een stuk makkelijker gemaakt. Laura, bedankt voor jouw deskundige advies over allosterische modulators en andere bio-zaken. All other colleagues at Medicinal Chemistry: I had a great time, and I miss the good atmosphere in the group and our twice-daily coffee breaks (and not principally because of the many excellent cakes).

A l’IGBMC (Strasbourg/Illkirch) et AstraZeneca (Montréal) j’ai été aidée dans le travail sur GPR88 par Jérôme, Brigitte, Pascal, Patricia et Eric. Un grand merci aussi à Manu, Domi, Dom, Aminah, Jack, Manon et à tous les autres collègues à Strasbourg et Montréal. Je suis

heureuse d'avoir travaillé dans un environnement où l'étude des RCPCs va plus loin que l'in vitro, et d'avoir eu l'occasion de voir le R&D industriel de tout près. Et de parler et comprendre le français est un grand cadeau que j'espère ne jamais perdre.

Mijn vrienden en huisgenoten, mes amiEs et colocataires, my friends and flatmates, these years would not have been as fun without you! Thank you for the laughter and the support. Cornelia, you were there for the infamous 'last 5%'. I could not have wished for a better thesis (and life-) coach. Like a real InDesign wizard you made the layout for my thesis book, and this was a great gift! Mijn familie, oma, mama, papa en Jochem, jullie zijn lichtende voorbeelden wat betreft energie, gevoel en verstand, en met jullie gaan pittige discussies en slappe lach hand in hand. Gelukkig zorgen telefoon, internet en hoge snelheidstrein voor korte lijntjes ongeacht de geografische situatie. Mr. Jochem (M.A.), ik ben blij dat ik je *in extremis* nog even actief kan betrekken in het promotie-proces als mijn paranimf. Wie weet worden de rollen in de toekomst nog een keer omgedraaid, maar zo niet dan weet ik zeker dat je een ander geweldig pad zult kiezen!

Curriculum vitae

Clara Catelijne Blad was born on December 5, 1982 in Rotterdam. She grew up mostly in Strijen, and in 1994 she started attending the Erasmiaans Gymnasium high school in Rotterdam, where she chose to study an eclectic mix of languages and science subjects. Furthermore, she was involved in a youth circus and played the flute. In 1998 she won the Gaudeamus prize for her rendering of a contemporary flute piece at the Prinses Christina Concours. She obtained her highschool diploma in Latin, geology and economics one year early in 1999, and in 11 other subjects including ancient Greek, chemistry, biology and physics in 2000. She chose to study bio-pharmaceutical sciences at Leiden University, with the goal of becoming a research scientist.

In 2003 she started her first internship, in which she studied the adenosine A_{2B} receptor expressed in yeast cells. This project was a collaboration of the divisions of Medicinal Chemistry and of Molecular Genetics of Leiden University, and was supervised by Margot Beukers. After this first experience with G protein-coupled receptors she was hooked. The adenosine A_{2B} receptor was also the subject of a second, nine-month internship in the same department. It included the presentation of a scientific poster at the Figo Dutch Medicines Days. From 2003 to 2005 Clara was also receiving music education, including weekly flute lessons, at the Conservatory of The Hague. She was selected for the National Student Orchestra in 2003 and 2005 and played in Berlin and Vienna with this ensemble.

In 2005 Clara moved to Strasbourg, France to study the μ opiate receptor in the laboratory of Prof. Dr. Brigitte Kieffer at the Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire. There, she learnt about a future project on a receptor with unknown function, GPR88, and jumped at the chance to be involved. After obtaining her 'doctorandus' degree (Bachelor and Master combined) from Leiden University in August 2006, she worked with professor Kieffer a further two and a half years, including a 6-month stay at the Astra-Zeneca R&D division in Montréal, Canada. In 2009 she defended a thesis on this research to obtain a postgraduate Diplôme de Recherche Spécialisé of Strasbourg University.

Directly after this Clara returned to Leiden and to the division of Medicinal Chemistry of the Leiden/Amsterdam Center for Drug Research (LACDR), this time to study the hydroxy-carboxylic acid receptor 2 (HCA_2) and the adenosine A_3 receptor under supervision of Prof. Dr. Ad IJzerman. The research on the A_3 receptor was a collaboration with Canfit BioPharma in Israel, and the work on the HCA_2 receptor was partly a collaboration with the Division of Bio-Pharmaceutics within the LACDR, whereas the review chapter on HCA receptors was written in collaboration with Prof. Dr. Stefan Offermanns, MPI Bad Nauheim, Germany. Clara presented parts of the research on (inter-)national conferences, including an oral communication at the IUPHAR WorldCongress of Basis and Clinical Pharmacology in Copenhagen in 2010. This work, together with the project on GPR88, constitutes this PhD thesis.

In the final writing stage, Clara joined the Max Planck Institute for Heart and Lung Research in Bad Nauheim, Germany, as a postdoctoral fellow in the group of Prof. Dr. Stefan Offermanns.

List of publications

Blad CC, Tang C, Offermanns S, *G protein-coupled receptors for energy metabolites: New therapeutic targets*. *Nature Rev Drug Discov* **2012**; 11: 603-619

Li Z and **Blad CC** (equal contributions), van der Sluis RJ, de Vries H, van Berkel TJC, IJzerman AP, Hoekstra M, *Effects of pyrazole partial agonists on HCA₂-mediated flushing and VLDL-triglyceride production in mice*. *Br J Pharmacol* **2012**; 167(4): 818-25

Blad CC, van Veldhoven JPD, Klopman C, Wolfram DR, Brussee J, Lane R, IJzerman AP, *Novel 3,6,7-substituted pyrazolopyrimidines as ago-allosteric modulators for the hydroxy-carboxylic acid receptor 2 (GPR109A)*. *J Med Chem* **2012**; 55(7): 3563-7

Blad CC, Ahmed K, IJzerman AP, Offermanns S, *Biological and pharmacological roles of HCA receptors*. *Adv Pharmacol* **2011**; 62: 219-50.

Blad CC, von Frijtag Drabbe Künzel JK, de Vries H, Mulder-Krieger T, Bar-Yehuda S, Fishman P, IJzerman AP, *Putative role of the adenosine A₃ receptor in the antiproliferative action of N⁶-(2-isopentenyl)adenosine*. *Purinergic Signal* **2011**; 7(4): 453-62

Van Veldhoven JPD, **Blad CC**, Artsen CM, Klopman C, Wolfram DR, Abdelkadir MJ, Lane JR, Brussee J, IJzerman AP, *Structure-activity relationships of trans-substituted-propenoic acid derivatives on the nicotinic acid receptor HCA₂ (GPR109A)*. *Bioorg Med Chem Lett* **2011**; 21(9): 2736-9.

Becker JA, Befort K, **Blad C**, Filliol D, Ghate A, Dembele D, Thibault C, Koch M, Muller J, Lardenois A, Poch O, Kieffer BL, *Transcriptome analysis identifies genes with enriched expression in the mouse central extended amygdala*. *Neuroscience* **2008**; 156(4): 950-65

Li Q, Ye K, **Blad CC**, den Dulk H, Brouwer J, IJzerman AP, Beukers MW, *ZM241385, DPCPX and MRS1706 are inverse agonists with different intrinsic efficacies on constitutively active mutants of the human adenosine A_{2B} receptor*. *J Pharmacol Exp Ther* **2007**; 320(2): 637-45

Beukers MW, van Oppenraaij J, van der Hoorn PP, **Blad CC**, den Dulk H, Brouwer J, IJzerman AP, *Random mutagenesis of the human adenosine A_{2B} receptor followed by growth selection in yeast. Identification of constitutively active and gain of function mutations*. *Mol Pharmacol* **2004**; 65(3): 702-10

