



WETENSCHAPPEN &
BIO-INGENIEURSWETENSCHAPPEN

De Onderzoeksgroep

Organische Chemie

nodigt U graag uit op de openbare verdediging van het proefschrift van

Robin Van Den Hauwe

ter behaling van de graad van Doctor in de Wetenschappen

Titel van het proefschrift:
Design, Synthesis and Biological Evaluation of Apelin 13 Mimetics

Promotor:
Prof. dr. Steven Ballet (VUB)

De verdediging heeft plaats op
Dinsdag 28 juni 2022 om 16u in aula K.2.56

Samenstelling van de jury

Prof. dr. Ann van Eeckhaut (VUB, voorzitter)
Prof. dr. Ulrich Hennecke (VUB, secretaris)
Prof. dr. em. Dirk Tourwé (VUB)
Prof. dr. Patrick Vanderheyden (VUB)
Dr. Florine Cavelier (University of Montpellier)
Prof. dr. Pieter Van Der Veken (University of Antwerp)

Curriculum vitae

Robin behaalde zijn Master of Science in Chemie diploma, met specialisatie in organische chemie en dit met grote onderscheiding in 2017. Kort erna, startte hij zijn doctoraat als assistend academisch personeel in 2018 in de onderzoeksgroep Organische Chemie, onder promotorschap van Prof. Dr. Steven Ballet. Tijdens deze periode behaalde hij een travel grant van het Fonds Wetenschappelijk Onderzoek en voerde onderzoek uit in het gerenommeerd laboratorium van Prof. Dr. Eric Marsault en Prof. Dr. Philippe Sarret in Sherbrooke, Canada. Robin is co-auteur van vier wetenschappelijke artikelen in peer-reviewed internationale tijdschriften, waarvan twee als eerste auteur. Naast het uitvoeren van onderwijstaken, heeft hij ook de begeleiding verzorgd van twee bachelor en twee master thesis studenten, alsook één stage student.

Abstract van het doctoraatsonderzoek

De apeline receptor (APJ) is lid van de GPCR-superfamilie. Het endogeen ligand is apeline en samen met de receptor vormt dit ligand het zogenaamde 'apelinerge systeem'. Dit systeem is wijdverspreid in het centrale zenuwstelsel en perifere weefsels en geniet veel interesse als een belangrijke regulator van cardiovasculaire functies via zijn acties op het hart, bloedvaten en nieren. Hoewel de octrooiactiviteit rond het apelinerge systeem de afgelopen jaren is toegenomen, blijft klinische validatie problematisch en is er momenteel geen farmaceutisch middel op de markt dat zich richt op het apelinerge systeem.

Als basis van dit proefschrift werd aangenomen dat modificaties van het apeline-peptide via toepassing van χ -ruimtebeperkingen en/of gemodificeerde aminozuren extra controle zou geven op vlak van receptor signalering, stabiliteit, affiniteit enz. In deze thesis, zijn verschillende strategieën gepresenteerd waar de C-terminus van [Pyr¹]-apeline-13 gemodificeerd is, *in casu* door het gebruik van verstrakte dipeptiden en gemodificeerde aminozuren. In eerste instantie werd de nadruk gelegd op de synthese van lokale verstrakkingen van zowel de Pro¹²- als de Phe¹³-posities van apeline-13. Deze liganden bleken subnanomolaire bindingsaffiniteit voor de APJ-receptor te bezitten, evenals een significant verhoogde *in vivo* stabiliteit en downstream signalisatie. De *in vivo* resultaten van onze beste eerste generatie liganden (Aia¹²-Phe¹³ en 1-Nal¹²-Db₂G¹³) toonden een hypotensieve werking. Vervolgens werd de bibliotheek uitgebreid met liganden waarin de zijketens van naburige aminozuren aan elkaar werden gekoppeld. Deze liganden vertoonden een hoge bindingsaffiniteit, een goede agonist signalisatie en een verbeterde plasmastabiliteit. Als meer rigide peptide analoga wordt verwacht dat deze liganden nieuwe inzichten verschaffen in het belang van de zijketenpositioneringen bij binding.

Na de synthese van lokale en dipeptide-verstrakkingen werd de aandacht gericht op verder onderzoek naar de chemische ruimte rond de C-terminale pocket door de invoer van N_α-gealkyleerde dipeptiden. In een studie die ongeveer 20 liganden omvatte met verschillende alkylsubstituenten, variërend in grootte van methyl tot 4-benzyloxybenzyl, werden verbeterde bindingsaffiniteiten verkregen in vergelijking met het endogeen ligand. Bijkomend werden plasma halfwaardetijden verkregen die hoger liggen dan 10 uur. Uniek is dat voor sommige analoga een matige bias werd geregistreerd die G_{α₁}-activering bevoordeelde ten opzichte van β-arrestin-2 rekrutering. *In vivo* evaluatie toonde een verminderd vermogen om de bloeddruk te verlagen in vergelijking met het endogeen ligand. In een later stadium werd de toevoeging van aminozuren met een positieve lading op de Phe¹³ positie in de C-terminus van apeline-13 geëvalueerd. Sommige analoga vertoonden bevoordeelde G_{α₁} activatie boven β-arrestin2 rekrutering met β-arr2 Emax-waarden van minder dan 50%. Invoering van dipeptiden in het apeline-13 C-terminus, met een gealkyleerde N_α en een positieve lading, verbeterde bindingsaffiniteit, stabiliteit en agonist signalisatie. Om te besluiten, leidde de invoering van verschillende verstrakte dipeptiden en onnatuurlijke aminozuren tot de ontwikkeling van krachtige apeline-peptide mimetica die een hoge affiniteit, hoge plasmastabiliteit, een bevooroordeeld agonisme vertonen, met bloeddrukverlagende effecten *in vivo*.