

Samenvatting

Kanker is gekarakteriseerd door een ongecontroleerde celdeling, dewelke een sterke stijging veroorzaakt in de vraag naar voedingsstoffen zoals suiker, aminozuren en nucleotiden. De toevoer van voldoende voedingsstoffen naar het tumorweefsel wordt voorzien door de aanmaak van nieuwe bloedvaten, een proces gekend als angiogenese. De aangevoerde voedingsstoffen worden de cel binnen gebracht via nutriënt transporters (e.g., GLUT-1, LAT-1, ASCT-2). In een grote waaier aan kankertypes is de aanmaak en de expressie van deze transporters verhoogd, en soms is de mate van expressie zelfs gecorreleerd met de prognose van de patiënt. Deze twee karakteristieken maken van nutriënt transporters een interessant doelwit voor moleculaire beeldvormingstechnieken zoals positron emissie tomografie (PET).

In dit werk was de alanine serine cysteine transporter-2 (ASCT-2) het onderwerp van onderzoek. De ASCT-2 is een natrium afhankelijke transporter van neutrale aminozuren (e.g., glutamine, alanine, serine, cysteine), waarvan glutamine de voornaamste is. Glutamine wordt in grote mate verbruikt door kanker weefsel en er zijn verschillende tumoren die er erg afhankelijk van zijn voor hun overleving en proliferatie. Sommige tumoren hebben zelfs een glutamine-verslaving, waarbij een omschakeling naar glutaminolysis plaats vindt. Dit kan mogelijk de negatieve [¹⁸F]FDG PET-scans van sommige tumoren verklaren. De rol van glutamine in kanker biologie heeft het onderzoek naar PET-tracers die het transport van dit aminozuur visualiseren aangewakkerd, meer specifiek tracers gericht naar glutamine's voornaamste transporter, ASCT-2. Op dit moment zijn de twee belangrijkste ASCT-2 tracers [¹⁸F]fluclilovine en (2S,4R)4-[¹⁸F]fluoroglutamine. [¹⁸F]fluclilovine is een veelbelovende tracer voor het in beeld brengen van prostaatkanker, maar heeft ook affiniteit voor de LAT-1 transporter. (2S,4R)4-[¹⁸F]fluoroglutamine is een probe met toepassingen in hersen- en borsttumoren, maar vertoont *in vivo* defluorinatie.

Het doel van dit doctoraatsonderzoek was het ontwikkelen van fluor-18 radio-gelabelde aminozuren als positron emissie tomografie tracers voor de visualisatie van glutamine transport in oncologie. De hypothese stelt dat het ontwikkelen van een stabiele moleculaire beeldvormingsmerker, die het glutamine transporter selectief kan

visualiseren, de artsen kan voorzien van meer informatie over de glutamine status van een patiënt. Dit kan mogelijk helpen in het bepalen van de prognose en de therapie planning van kankerpatiënten.

Hoofdstuk 1 van dit werk bevat een uitgebreide literatuurstudie, die de lezer voldoende achtergrondinformatie voorziet in de domeinen van oncologie en moleculaire beeldvorming, dewelke nodig is voor een goed begrip van het uitgevoerde onderzoek. Het doel en toepassingsgebied van dit werk zijn uiteengezet in **Hoofdstuk 2**.

In **Hoofdstuk 3** wordt de financiële haalbaarheid van interventies met aminozuur PET tracers in oncologie geëvalueerd. Meer specifiek wordt de kosten-effectiviteit van [¹⁸F]FET PET gebruik voor de therapie management van temozolomide bij patiënten met glioblastoma onderzocht. Incrementele kosten-effectiviteitsratios van ongeveer 1,350 euro werden berekend. De resultaten van de sensitiviteitsanalyse geven aan dat de waarden bekomen werden met een aanvaardbaar onzekerheidsniveau, gegeven de robuustheid van de data. Deze casus studie toont aan dat fluor-18 gelabelde aminozuur PET tracers gebruikt kunnen worden als kosten-effectieve middel in een oncologische setting.

Na de kosteneffectiviteitsanalyse over het gebruik van aminozuur PET tracers werden een reeks moleculen ontwikkeld die met ASCT-2 interageren. Vijf lead compounds, moleculen die aan ASCT-2 binden, werden geselecteerd als backbone molecules voor de labelling met fluor-18. In **Hoofdstuk 4** werden afgeleiden van deze moleculen gesynthetiseerd als referentie compounds, dewelke volledig gekarakteriseerd kunnen worden, en die gebruikt kunnen worden als precursoren die vervolgens gelabeld worden met fluor-18. De synthese van de referentie- en precursor moleculen was succesvol voor alle beoogde radiotracers, behalve de synthese van de biphenyl serine ester analogen.

De fluor-18 derivaten van de precursoren werden ontwikkeld in **Hoofdstuk 5**. Een synthese strategie waarbij gebruik gemaakt wordt van ruthenium gefaciliteerde aromatische fluorinatie werd gebruikt om de *L*- γ -glutamyl-*p*-nitroanillide analogen ([¹⁸F]FPG en [¹⁸F]FBPG) te maken. De fluorinatie van de 1,2,3-dithiazole groep vormde een grotere uitdaging en vereiste een disconnection aanpak om interferentie met de

heterocyclische groep te vermijden. In een eerste stap werd hydroxyaniline gefluoreerd aan de hand van de ruthenium gefaciliteerde aromatische fluorinatie techniek. Vervolgens werd het gevormde [¹⁸F]fluoroaniline gekoppeld aan de 1,2,3-dithiazole groep om zo [¹⁸F]ClFPDi te maken. De radiochemische fluorinatie van de V-9302 analoog was succesvol door het gebruik van een alifatische nucleofiele fluorinatie, resulterend in de aanmaak van [¹⁸F]FABABA, al zij het met een laag radiochemisch rendement. Als laatste werd een analoog van biphenylproline gefluoreerd, waarbij de ruthenium gefaciliteerde aromatische fluorinatie tot de succesvolle synthese van [¹⁸F]FBPP leidde.

De ontwikkelde tracers werden *in vitro* gekarakteriseerd om een preliminair idee te krijgen van hun beeldvormingspotentieel. Daarvoor werden in **Hoofdstuk 6** de radiotracers getest naar hun stabiliteit in fosfaat buffer gedurende een incubatie van 3 uur. Ook werd de logD_{7.4} bepaald en de affiniteit van de radiotracers voor ASCT-2 aan de hand van een [³H]glutamine concentratie studie. [¹⁸F]ClFPDi vertoonde afbraak in de fosfaat buffer formulatie en werd niet verder getest voor zijn affiniteit naar de ASCT-2 toe. Koude referentieproducten van [¹⁸F]FPG, [¹⁸F]FBPG, [¹⁸F]FABABA en [¹⁸F]FBPP werden onderworpen aan de [³H]glutamine verdringingstesten met als doel een K_i bepaling. [¹⁸F]FPG, [¹⁸F]FBPG en [¹⁸F]FABABA vertoonden affiniteit voor ASCT-2 en werden behouden voor verdere *in vivo* testen. Geobserveerde K_i waarden van [¹⁸F]FBPP toonden dat de tracer een bijna onbestaande affiniteit voor ASCT-2 had en werd daardoor niet behouden voor verdere experimenten.

In **Hoofdstuk 7** werd de tumor opname van de radiotracers *in vivo* geëvalueerd in zowel een PC-3 als F98 tumormodel aan de hand van dynamische PET acquisities. [¹⁸F]FABABA, de fluor-18 gelabelde analoog van molecule V-9302, vertoonde zeer weinig opname in het tumor weefsel, hoewel *in vitro* een goed affiniteit waargenomen werd. Snelle opname in de lever en de darmen doen een grote mate van metabolisatie vermoeden. Gelijkaardig aan [¹⁸F]FABABA vertoont ook [¹⁸F]FBPG een minimale opname in tumor weefsel. De affiniteit van deze tracer blijkt onvoldoende voor een goede aflijning van de tumoren. In contrast tot zowel [¹⁸F]FABABA en [¹⁸F]FBPG, beschikt [¹⁸F]FPG wel tot mogelijkheid om de PC-3 tumoren in beeld te brengen. Deze

radiotracer is een veelbelovende lead molecule, waar verdere optimalisatie van de phenyl groep kan resulteren in een glutamine gebaseerde PET tracer van hoge kwaliteit.

In **Hoofdstuk 8** worden de algemene conclusies van de experimentele hoofdstukken besproken. Over de toekomstperspectieven en de bredere internationaal context van dit project wordt verder uitgeweid in **Hoofdstuk 9**.