

Egyetemi doktori (PhD) értekezés tézisei

**Gallium-68 radioizotóppal jelölt komplexek szintézise,
vizsgálata és alkalmazásuk kisállat-PET leképezés során**

Máté Gábor

Témavezető: Prof. Dr. Galuska László



DEBRECENI EGYETEM
Molekuláris Orvostudomány Doktori Iskola

Debrecen, 2017

Gallium-68 radioizotóppal jelölt komplexek szintézise, vizsgálata és alkalmazásuk kisállat-PET leképezés során

Értekezés a doktori (PhD) fokozat megszerzése érdekében
az elméleti orvostudományok tudományágban

Írta: Máté Gábor okleveles gyógyszerész

Készült a Debreceni Egyetem Molekuláris Orvostudomány doktori
iskolája
(Élettan és Neurobiológia programja) keretében

Témavezető: Prof. Dr. Galuska László, az MTA doktora

A doktori szigorlati bizottság:

elnök: Prof. Dr. Virág László, az MTA doktora
tagok: Dr. Mádi András, PhD
Dr. Tömböly Csaba, PhD

A doktori szigorlat időpontja: Debreceni Egyetem ÁOK,
Élettudományi Központ 3. fészű 3.306. iroda, 2018. január 12. 11:00

Az értekezés bírálói:

Prof. Dr. Nagy Noémi, az MTA doktora
Dr. Bánóczy Zoltán, PhD

A bírálóbizottság:

elnök: Prof. Dr. Virág László, az MTA doktora
tagok: Prof. Dr. Nagy Noémi, az MTA doktora
Dr. Bánóczy Zoltán, PhD
Dr. Mádi András, PhD
Dr. Tömböly Csaba, PhD

Az értekezés védésének időpontja: Debreceni Egyetem ÁOK,
Belgyógyászati Intézet „A” épület tanterme, 2018. január 12. 13:00

1. Bevezetés

A Pozitron Emissziós Tomográfia (PET) a nukleáris medicina eszköztárának egyik legfontosabb eleme, jelentősége az orvostudomány számos területén, különösképpen az onkológiai diagnosztikában tagadhatatlan.

Napjainkban a PET vizsgálatok döntő többségét egyetlen farmakonnal, a ^{18}F -Fluoro-dezoxi-glükózzal (^{18}F -FDG) végzik. A ^{18}F -FDG szervezetben történő disztribúciója során a glükóz transzportjával megegyező mechanizmussal lép be a sejtekbe, majd intracellulárisan egy hexokináz foszforilálja FDG-6-foszfáttá. Ezt követően, amennyiben a vonatkozó szövet glükóz-6-foszfátáz enzim koncentráció alacsony (agy, myocardium, legtöbb malignus sejt) a szövet szénhidrát-anyagcseréjével arányos mennyiségben halmozódik, további enzimatisz kölcsönhatásba nem lép; azon szövetekben, ahol pedig glükóz-6-foszfátáz enzim tartalom kimutatható, a halmozás mértéke csökkent. A megoszlás és metabolizáció mechanizmusából látható, hogy a ^{18}F -FDG metabolikus tracer, mely számos szövetben fízológias körülmények között, illetve számos patológias folyamatban (tumrok, gyulladásos folyamatok) jelentős halmozást mutat, mely a PET-leképezés során jelentős háttér-aktivitáshoz és a kimutatni kívánt folyamatra vonatkozóan bizonyos esetekben alacsony specifitáshoz, fals pozitív és fals negatív eredményekhez vezethet.

A személyre szabott gyógyászattal kapcsolatos igény megszületésével, a PET széleskörű elterjedésével és az ^{18}F -FDG-PET ismeretanyagának bővülésével katalizálódtak azok a kutatások, melyek a ^{18}F -FDG-nél specifikusabb, targetált PET-radiofarmakonok

kifejlesztésével foglalkoznak. Ezt a folyamatot a nukleáris medicinában a molekuláris képalkotás és célzott radioterápia kombinációjának igénye – azonos molekuláris célpontot elérő, de más izotópokkal jelzett teragnosztikus kezelések tovább erősítik. Erre példaként a neuroendokrin tumorok (NET) említhetők, melyek jellemzően a ^{18}F -FDG-t kevésbé halmozó, lassan növekvő tumorok, azonban szomatosztatin-receptor-expressziójuknak köszönhetően diagnosztikájukat (^{111}In -DTPA-Oktreotid-SPECT, ^{68}Ga -DOTATOC/TATE-PET) és terápiájukat (^{90}Y trium-DOTATOC/DOTATATE, illetve ^{177}Lu técium-DOTATOC/DOTATATE/DOTANOC) is radioaktívan jelölt szomatosztatin-analógokkal végzik, ahogyan az látható különböző radiofémekkel.

Mint pozitron-forrás radiofém-izotóp, a gallium 68-as tömegszámú radionuklidja, mely a ^{68}Ga -DOTATOC/TATE jelölő izotópjaként már az említett klinikai relevanciával bír, egyre nagyobb érdeklődésre tart számot a PET-hez kapcsolódó kutatásokban. A Ga-68 67,7 perces felezési idejével kiválóan alkalmas gyors disztribúciójú peptidek, fehérjék *in vivo* leképezésére, így specifikus, targetált radiofarmakonok szintézisére. Mindemellett azonban a ^{68}Ga -jelölt radiofarmakonok megfelelő előállítása érdekében, a területhez kapcsolódó, alkalmazott radiokémia egyik legfontosabb feladatává vált új ^{68}Ga -kelátorok szintézise és jellemzése, illetve a ^{68}Ga -PET-hez alkalmazható biológiai vektorok feltérképezése.

2. Célkitűzések

A Ga-68 a PET képalkotási technika legfontosabb radiofém-izotópjává vált az elmúlt évtizedekben. Kedvező fizikai tulajdonságai (89% β^+ ; $t_{1/2} = 67,7$ min; $E_{\text{átl}}(\beta^+) = 740$ keV) és – a más, klasszikus pozitron-sugárzó izotópok (^{18}F , ^{11}C) alkalmazásához szükséges ciklotron-telepítési költségekhez képest – olcsó elérhetősége $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ -generátorokon keresztül alkalmassá teszi új típusú – a jövőben akár kit alapon is – a vizsgálóhelyen előállított PET-radiógyógyszerek bevezetésére. Ehhez azonban előzetesen szükséges a kifejlesztendő ^{68}Ga -jelölt radiógyógyszerek gondos megtervezése, megfelelően optimalizált szintézise és jól körüljárt preklinikai tesztelése. Kutatómunkánk során ezekhez a folyamatokhoz szerettünk volna hozzájárulni, így vizsgálatainkkal két fontosabb terület további felderítését céloztuk:

- ^{68}Ga -jelölésre alkalmas kelátor molekulák tesztelése, a jelölési körülmények optimalizálása hatékony radioszintézisek megvalósításához.
- ^{68}Ga -jelölt kelátor-biológiai vektor konjugátumok előállítása preklinikai teszteléshez

Ezen célokat szem előtt tartva a kísérletes munkát három fontosabb projekt keretein belül végeztük:

Projekt 1: Ga-68 jelölésekhez használt kelátorok vizsgálata tradicionális, manuális jelölési metodikával; az 1,4,7-triazaciklononán

vázis NOTA, NOPA, NO2AP és NOPO rendszerek összehasonlító radioanalitikai vizsgálata.

Projekt 2: A Ga-68 jelölések tanulmányozásához használt manuális jelölési metodika mellett alternatív, mikrofluidikai jelölési módszer fejlesztése.

Projekt 3: A Ga-68 jelölések alkalmazása biológiai rendszerekben történő leképezéshez, melyhez biológiai vektorként a ciklikus NGR peptidet, bifunkcionális kelátorként a NOTA-kelátort választottuk, illetve PET-leképezésre való alkalmasságát a jelölt ^{68}Ga -NODAGA-[c(RGD)₂] radiofarmakonnal összehasonlítva tanulmányoztuk. Az NGR-peptid által targetált makromolekula, az aminopeptidáz N-, illetve az RGD-peptid által targetált integrin-receptor megnövekedett méretű expressziója a tumorok környezetében zajló angiogenezisre jellemző folyamat, és tudományosan bebizonyított.

3. Anyagok és Módszerek

3.1 Foszfin- és karboxil-csoportokkal eltérően szubsztituált TACN-vázak kelátorok ^{68}Ga -jelölési sajátságainak összehasonlító vizsgálata

Első kísérletsorozatunkat a szakirodalomban elérhető manuális jelölési protokollok szerint végeztük annak érdekében, hogy közvetlen szerkezet-jelölési hatékonyság összefüggéseket tárjunk fel 1,4,7-triazaciklononán (TACN) alapú kelátorok körében. Választásunk azért erre a vegyületcsaládra esett, mert a nyílt láncú Ga-komplekképzőkkel szemben előnyösebb stabilitási sajátságokkal rendelkeznek, illetve kooperációs partnereink legújabb eredményei alapján három metilén-foszfin-csoport N-szubsztitúciója a gyűrűre felerősíti a molekula affinitását ^{68}Ga -mal való kelátképzésre (ún. TRAP-típusú kelátor – *Triazacyclonane Phosphinic Acid*). Ezen hatás további tanulmányozása érdekében az irodalomból már ismeretes, három metilén-karboxil szubsztituenssel rendelkező NOTA kelátorral való összehasonlításban a karboxil és foszfin csoport-tartalmú oldalláncokkal eltérően szubsztituált, „vegyes” kelátorok (NOPA, NO2AP) és a három foszfin-csoporttal rendelkező NOPO összehasonlító vizsgálatát kezdtük meg.

Vizsgálatainkat egy iThemba típusú $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ -generátor 1M HCl-oldattal történő elúciójával kezdtük. Az eluátum legmagasabb aktivitáskoncentrációval rendelkező 1,25 ml-es frakcióját 0,8 ml 2,7 M HEPES-oldattal puffereltük pH 3,0-ra. Ebből az oldatból 90 µl-es frakciókat pipettáztunk előzetesen előkészített 10 µl ligand-oldathoz. A

kész reakcióelegyeket 25, ill. 95°C-on tartottunk 5 percig, majd a kész elegyből mintát véve a radiokémiai tisztaságot vékonyréteg-kromatográfiás módszerrel követtük; állófázis: szilikával impregnált papír (Varian Inc), mozgófázis: 1 M $\text{NH}_4\text{OAc}:\text{MeOH}/1:1$. A megfuttatott papírokat TLC-szkennelrel (MiniGITA Star, Raytest) olvastattuk be és elemeztük.

3.2 *^{68}Ga -kelátorok komplexképzési reakcióinak mikrofluidikai optimalizálása*

További kísérleteink során egy olyan jelölési metodika kifejlesztésébe kezdtünk, amely az eddig ismert kézi jelölési módszerekkel szemben ^{68}Ga -kelátorok hatékonyabb és gyorsabb karakterizálását teszi lehetővé. Célul tűztük ki egy olyan mikrofluidikai mérésekre alkalmas rendszer összeállítását és tesztelését, amely automatizáltan és a mikrofluid rendszerek sajátosságaihoz illeszkedően rendkívül kis folyadékmennyiségek használatával, ill. hordozó hozzáadása nélkül alkalmas ^{68}Ga -mal végzett komplexképzési reakciók végrehajtására és analízisére; ezáltal képes a ^{68}Ga -kelátor jelölési paramétereinek optimalizálására.

Az új rendszer összehasonlítását a manuális jelölésekkel az irodalomból már ismert NOTA és NOPO kelátorokkal végeztük, a rendszerrel gyors multiparametrikus reakció-optimalizálás vált lehetségessé, amelyhez szintén a NOTA- és NOPO--kelátorokat használtuk.

A mikrofluid jelöléseket minden esetben két azonos térfogatú oldat összeinjektálásával végeztük; az egyik ágon HEPES-pufferelt

^{68}Ga -aktivitást tartalmazó 1M aq. HCl-val kinyert (iThemba Labs) $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ -generátor-eluátum volt, a másik ágról szintén HEPES-pufferelt kelátor-oldatot adagoltunk. Utóbbi oldat pH-ját – előzetes titrálás alapján –HCl, ill. NaOH-oldat segítségével minden esetben úgy állítottuk be, hogy a HEPES-pufferelt eluátummal az azonos térfogatú összeinjektálás után a méréseknél jelzett pH-érték adódjon.

Az optimalizálási kísérletek során 20-20 μl -es térfogatú oldatokat reagáltattunk 95°C-ra termosztált PEEK-csőben és ebből 20 μl -t injektáltunk online egy Waters típusú HPLC rendszerre. Az elválasztást Adsorbosphere XL SCX oszlopon végeztük, a mozgófázis: A – víz; B – 0,2 M aq. borkősav C – 5%(m/m) aq. NaCl-oldat. Peptidek esetében HPLC elválasztáshoz Kinetex oszlopot és Víz/Acetonitril grádiens elúciót alkalmaztunk.

Az áramlásos rendszerben kelátort nem tartalmazó „vak” oldatok segítségével tanulmányoztuk a PEEK-kapilláris, mint reaktorban jelentkező ^{68}Ga -aktivitásretenciót.

A mikrofluid rendszer teljes radiokémiai szintézisek elvégzésére való lehetséges alkalmazását kombinált mérési protokoll alkalmazásával végeztük, mely mind retenciós, mind pedig radiokémiai tisztáság vizsgálatokat magába foglalt a vizsgálat vegyületekre. A szintéziseket 10-10 μL térfogatokkal végeztük azonban itt nem történt meg a reakcióelegyek injektálása online HPLC rendszerre. Ezeknél a reakciónál a jelölt oldatokat cseppenkénti frakcionálással gyűjtöttük a rendszerből kifolyó folyamatos folyadékáramlásból. A radioaktivitás értékeket azonnal mértük Canberra gamma spektrométer segítségével az 511keV energiacsúcs AUC értékének használatával. Ezt követően az

oldat mintáját HPLC-rendszerre injektáltuk a radiokémiai tisztaság meghatározásához.

A szintézis paramétereit (pH, ligand-koncentráció) a NOTA és NOPO multiparametrikus jelölési optimalizálási vizsgálatok eredményeire alapozva választottuk, illetve az adott kelátorra vonatkozó azonos paraméterekkel dolgoztunk a kelátorhoz kapcsolódó biológiai vektor-konjugátumok, NODAGA-c(RGD)₂, illetve NOPO-RGD jelölési vizsgálatainál. A reakciókat minden esetben 95 °C-on 5 perc reakcióidővel végeztük, továbbá NOTA és NOPO esetében csökkenő reakcióidővel (5 perc mellett 2,5 és 1,25 percnél) is végrehajtottunk kísérleteket a rendszerben történő áramlási sebesség (0,066 mL/min helyett 0,132, illetve 0,264 mL/min) növelésével.

3.3 ⁶⁸Ga-NOTA-c(NGR) szintézise és alkalmazása Aminopeptidáz N (CD13) receptorok in vivo leképezésére

Vizsgálataink során NGR peptid szintézise történt Fmoc/tBu stratégiával, a részlegesen védett lineáris peptid ciklizálását követően a termék tisztítását RP-HPLC-n végeztük. A létrejött c[KNGRE]-NH₂ peptidet NOTA kelátorral konjugáltuk a Lys ε aminocsoportján *p*-SCN-Bn-NOTA segítségével DMSO-ban. Az így kapott NOTA-konjugált NGR-analógot (NOTA-c(NGR)) szemipreparatív HPLC segítségével tisztítottuk és ESI-MS segítségével azonosítottuk.

A kelátorral konjugált vektor ⁶⁸Ga-jelölését, 1 M nátrium-acetát-oldattal történő pufferralás mellett ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga-generátor (iThemba) 1M HCl-oldattal eluátumával végeztük, az oldat kisállat-kísérletekhez szükséges formulálását a jelölt peptid Empore[®] C18 SD 7 mm/3 mL

extrakciós diszk felszínén történő megkötésével, az állófázis vizes mosásával, EtOH-os elúciójával, a szerves fázis bepárlásával és a radiofarmakon izotóniás sóoldatban való újraoldásával valósítottuk meg.

Ehhez hasonló módszerrel, de nátrium-acetát helyett HEPES-pufferelt elegyben, emelt hőmérsékleten végeztük az irodalomból ismeretes NODAGA-[c(RGD)₂] jelölését.

Az általunk újonnan előállított ⁶⁸Ga-NOTA-c(NGR) jellemzésére partíciós koefficiensének megállapításához a radioaktívan jelölt vegyület 1-oktanol és PBS oldat közti megoszlásának logP értékeként mértük, továbbá stabilitását PBS-oldatban 95°C-on és patkány szérumban 37°C-on teszteltük.

Kísálat-vizsgálataink során kémiaiilag indukált patkány mesenchymális mesoblastos nephroma (NeDe) tumort alkalmaztunk kétféle anatómiai lokalizációban létrehozott tumormodellel. Szubkután állatmodell esetében 5 x 10⁶ NeDe tumor sejt 150 µL sóoldatban került injektálásra szubkután a bal combba, míg másik tumormodellel indukciójához a subrenal capsule assay (SRCA) módszert alkalmaztuk. Itt a sebészi operáció célja, hogy tumorsejteket tartalmazó Gelaspon[®] diszket helyezünk a bal vese tokja alá. A beültetéshez 5 x 10⁶ NeDe tumor sejtet tartalmazó 20 µL sóoldatot helyeztünk Gelaspon[®] diszkre. Az állatok izofluránnal történő altatása után a retroperitoneum megnyitása történt alhasi bemetszéssel, a bal vese vesetokja alá pedig a Gelaspon[®] diszket helyeztük be.

12 ± 2 nappal a NeDe sejtek beültetését követően kontroll és tumor-hordozó patkányokat injektáltunk a farki vénán keresztül 7,4 ± 0,2 MBq ⁶⁸Ga-NOTA-c(NGR)-, illetve ⁶⁸Ga-NODAGA-[c(RGD)₂]-

oldatokkal. A radiofarmakon beadása után 90 perccel az állatokat izofluránnal elaltattuk és teljes test PET-vizsgálatokat végeztünk (10 perces statikus PET leképezés minden egyes ágy-pozícióban) MiniPET-II kisállat PET szkennel segítségével. A tumorok anatómiai helyzetének meghatározására CBCT-t használtunk.

A PET leképezéseket követő napon a kontroll és tumor-hordozó patkányokat elaltattuk, majd $7,4 \pm 0,2$ MBq ^{68}Ga -NOTA-c(NGR) vagy ^{68}Ga -NODAGA-[c(RGD)]₂-oldatokkal injektáltuk a farki vénán keresztül. 90 min inkubációs időt követően az állatok 60 mg/kg pentobarbitál peritoneális injekcióval eutanáziáját végeztük és vérmintát vettünk a szívből. Három szövet-mintát vettünk az egyes szervekből (máj, lép, vese, bél, szív, gyomor, izom tüdő és tumor) és aktivitásukat kalibrált gamma számláló segítségével mértük.

Ex vivo és *in vivo* blokkolási kísérleteink során a kontroll és NeDe-tumor-hordozó patkányokat 200 µg jelöletlen NOTA-c(NGR) 100 µL sóoldatban (blokkként a ^{68}Ga -jelölt peptid kb. 100-szoros mennyisége) intravénás injekció formájában injektáltuk a ^{68}Ga -NOTA-c(NGR) beadása előtt 5 perccel.

A NeDe sejtvonal és az állatkísérletek során nyert szövetminták APN/CD13 expressziójának meghatározásához Western blot analízis történt.

4. Eredmények és megbeszélés

4.1 Foszfin- és karboxil-csoportokkal eltérően szubsztituált TACN-vázaz kelátorok ^{68}Ga -jelölési sajátságainak összehasonlító vizsgálata

A projekt során analóg szerkezetű 1,4,7-triazaciklononán vázzal rendelkező, eltérően N-szubsztituált kelátorsorozat összehasonlító vizsgálatát végeztük. Kiindulási sorozatként pH 3 értéknél 95 és 25 °C-on végeztük a méréseket. A szerkezeti hasonlóság, várakozásunknak megfelelően a vegyületek jelölési sajátságaiban is tükröződött, így hasonló alakú görbe ábrázolódtott a vizsgált NOTA, NOPA, NO2AP és NOPO vegyületekre, illetve a szobahőmérsékleten végzett jelöléseknél magasabb ligand-koncentráció volt szükséges a kvantitatív jelölések végrehajtásához, mint emelt hőmérsékleten. Utóbbi vizsgálat-sorozathoz a NOPO minden esetben jobb jelölési sajátságokkal rendelkezett a kevert szubsztituensekkel rendelkező ligandokhoz és a NOTA-hoz képest. Érdekes módon egyetlen karboxil-donor jelenléte a NOPA esetében nem befolyásolja jelentősen a jelölési teljesítményt pH 3 értéknél a NOPO-val való összehasonlítás során. Hasonló módon a monofoszfin-ligand NO2AP inkább a NOTA-hoz hasonló reakciókészséget mutatott 95 °C-on. Azonban 25 °C-on a NO2AP a NOTA-nál már jobb jelölési hatékonysággal rendelkezett, habár itt az elérhető maximális radiokémiai tisztaság nem haladta meg a 90%-ot még viszonylag magas kelátor-koncentrációknál sem. Összességében a legnagyobb lépcsőt jelölési effektivitás tekintetében az egy vagy két

karboxil-, illetve foszfin-csoporttal rendelkező kelátorok esetén mértünk. A NOPA, illetve a NO₂AP jelölhetőségét az 50%-os aktivitáskötési értéknél összevetve, mindkét hőmérsékletnél háromszor magasabb hatékonyságot találunk a NOPA esetében. A NOPO és a NOTA esetében ugyanez a különbség tízszeres.

Mivel minden vizsgált vegyület esetében közel kvantitatív jelölési hatékonyságot találtunk 95 °C-on végzett reakciók esetén 3 µM, illetve 25 °C-on végzett reakciók esetén 30 µM ligandkoncentráció értékeknél (5 perc reakcióidő mellett), ezért ezeket a mennyiségeket választottuk további vizsgálatainkhoz, mely során a reakcióelegy pH-ját változtattuk. 95 °C-on végezve reakcióinkat megfigyelhető, hogy a foszfin-tartalmú szubsztituensek számának növekedésével a foszfin-csoport erősebben savas jellegéből adódóan már alacsonyabb pH-tartományban is teljes mértékű jelölést találunk. Ez összhangban van korábbi mérésekkel, a NOPO-t akár még 0,5 pH-értéknél is lehetséges kvantitatívan jelölni. Ezzel szemben a NOTA jobb teljesítménnyel rendelkezik a semleges illetve enyhén savas értékek mentén, azonban 8-as pH érték felett már egyik vegyület sem volt jelölhető.

Szobahőmérsékleten a kelátorok kvantitatív jelölhetősége jóval keskenyebb pH-sávban volt lehetséges a kiválasztott koncentrációnál. NOPO esetében a jelölhetőség még alacsonyabb pH mellett is megmaradt, igaz, hogy csökkent mértékben, azonban NOPO, NOPA és NO₂AP esetében 3 és 4 pH értéknél találtunk optimumot, míg pH 2 esetében már nem mutattak komplexképző tulajdonságot. Utóbbi esetében 90% fölötti értéket itt sem találtunk, míg a másik két kelátor itt kvantitatív ⁶⁸Ga-jelölést mutatott. 4-es pH-érték fölött a NOPO jelölési

hatékonysága jobban csökkent szobahőmérsékleten a pH növelésével, mint más ligandok esetében. Ezzel szemben és a 95 °C-on végzett jelölésekhez hasonlóan a NOTA jobb jelölhetőséget mutatott a többi vizsgált vegyülethez képest pH 4 és 7 között, pH 4-es optimummal.

Összességében a radiojelölési vizsgálatokkal szerzett adatok összhangban vannak a hasonló ligandokkal kapcsolatos korábbi, irodalomból ismert mérések eredményeivel. A foszfintartalmú TACN-származékok nagyobb gallium(III) szelektivitásának köszönhetően alacsonyabb ligand-koncentráció is elegendő a hatékony radiojelöléshez a foszfin-szubsztituensek számának növelésével. Hasonló tendencia volt tapasztalható egy diacetát-foszfin TACN-származék esetében – a $\text{CH}_2\text{CH}(\text{PO}_3\text{H}_2)$ csoporttal. Több foszfin-csoportot tartalmazó szubsztituens eredményesebb ^{68}Ga -jelölést tesz lehetővé azonos ligandum-koncentráció esetében, valamint a savasabb oldatokban is használható, hiszen az oldallánc savi disszociációs állandója kisebb. Másrésről a karboxil-tartalmú oldalláncokkal rendelkező ligandok alkalmasabbnak bizonyulnak ^{68}Ga jelölésre pH > 4-5 esetén. Ezt okozhatja a hidroxid anionnal való kompetíció, hiszen a Ga-NOTA komplex a rendelkezésre álló adatok alapján stabilabb, mint a Ga-NOPO komplex, így egy stabilabb komplex esetén a pH növekedése kevésbé befolyásolja a komplexképző sajátságokat.

4.2. ^{68}Ga -kelátorok komplexképzési reakcióinak mikrofluidikai optimalizálása

Számos jól ismert ^{18}F - és ^{11}C -jelölt radiogyógyszer esetében találunk mikrofluid megoldásokon alapuló alternatív szintézismódszert,

ezzel szemben a PET-radiofémekkel végzett tanulmányok száma a témában rendkívül korlátozott. Az irodalomban PDMS-chip alapú reaktorban végeztek batch-szintéziseket ^{64}Cu -DOTA-c(RGDfK) előállítására, illetve ehhez hasonló PDMS-chip alapú szintézis-módszer ismeretes jelölésére Cu-64 és Ga-68 radionuklidokkal.

Szemben a korábbi tanulmányokkal, kísérleteink során folyamatos folyadék-áramlásos mikrofluid módszert alkalmaztunk, ahol PEEK-kapilláris szolgált nem-konvencionális reaktorként ^{68}Ga -jelölt radiofarmakonok hordozó hozzáadása nélküli szintéziséhez. A reaktorcsövet légtermosztátban tekercseltük fel a megfelelő hőmérséklet szabályozás érdekében. A rendszer tesztelésére szolgáló vegyületekként NOTA és NOPO kelátorokat választottunk, hiszen ezen kelátorok ^{68}Ga -jelölési sajátságai már jól ismertek. Reakcióink online analitikai értékelése érdekében új HPLC módszert alkalmaztunk a jelölt kelátorok és a „szabad” Ga-68 elválasztására. Mikrofluid jelölési módszerünk eredményét hagyományos, manuális szintézisek eredményével vetettük össze. A két módszer nagyon alacsony NOPO koncentráció mellett eredményezett kismértékű eltérést, azonban ezt a különbséget elfogadtuk, mint mérési határérték közelében jelentkező különbséget, egyéb pontokon a két módszerrel kapott eredményeink megfeleltethetőek egymásnak.

Az összeállított, folyamatos-folyadékáramlásos mikrofluid rendszer további tesztelése a készülék nagy teljesítőképességének és automata működésének kihasználásával történt. NOTA és NOPO kelátorok jelölési sajátságait automatikus ciklusokban végrehajtott mikrofluid reakciók sorozatával végeztük a reakciókörülmények széles

skáláján: 0,01 -100 μ M ligand-koncentráció és 1-9 pH; 95 °C rendszerhőmérséklet és 5 perc reakcióidő alkalmazása mellett.

A kelátorral kapcsolatban megjelent korábbi publikációkkal összhangban, a NOPO foszfinsav tartalmú szubsztituenseinek köszönhetően a NOTA viszonyítva kedvezőbb jelölési sajátságokat mutat.. Ez tapasztalható volt mind a kvantitatív jelölés eléréséhez szükséges legalacsonyabb kelátor-koncentráció, mind pedig azon pH-tartomány tekintetében, ahol $RCP \geq 95\%$ reakcióelegyeket találhattunk a vizsgált körülmények között. Még a rendkívül savas 1 és 2 pH értékeknél is jelentős komplexképzési sajátságot tapasztaltunk a ^{68}Ga -radionukliddal.

A reaktorként alkalmazott PEEK kapillárist számos más radiokémiai rendszerben sikerrel alkalmazták már, mivel savas, bázikus körülményekkel, szerves oldószerekkel és magas hőmérséklettel (134 °C-ig) szemben kompatibilis. Ennek megfelelően, az organikus polimer, PEEK-kel kapcsolatosan nem vártunk jelentős reakciókészséget a ^{68}Ga -jelölési reakcióink során alkalmazott reagensekkel, mégis ^{68}Ga -radionuklid-retenciós vizsgálataink során egy érdekes visszatartási mintázatot találtunk. A rendszerben hozzáadott kelátor nélkül a jelölési reakcióknak megfelelően pufferelt ^{68}Ga -oldatot áramoltatva pH 3 és 7 között jelentős aktivitás-visszatartást mértünk. Ebben a pH-tartományban az összetételtől függően a vizes oldatban lévő gallium különböző hidroxó-komplexeket képez $[\text{Ga}(\text{OH})_n]$, mely folyamat egyre meghatározóbbá válik az oldat pH-jának emelésével. Ezzel szemben a retencióért felelős lehet egy másik feltételezett komplexképző, a jelölési reakciók puffereléséért felelős HEPES,

melyről a szakirodalom is feltételezi, hogy gyenge komplexet képez Ga(III)(aq.)-mal és szerves molekula révén, nagyobb adszorpciós affinitást mutathat PEEK-cső falához (melytől kémiai szerkezetéből adódóan elsősorban inert, hidrofób sajátosságokat feltételezhetünk), mint vizes Ga(III)(aq.) esetében. Mivel a pH csökkenésével kisebb a hidroxokomplexek részesezési aránya, ez teret adhat a HEPES-komplex növekedésének, ami magyarázatul szolgálhat az általunk megfigyelt jelenségre. Mindemellett – és kicsit alátámasztva az előbbi hipotézisünket - a 3,0-s pH érték jelentős szerepe figyelhető meg a jelenlegi jelölések során, mivel a legmagasabb jelölési hatékonyságot a legalacsonyabb szükséges ligand-koncentrációval 3,0-s pH értéknél találtuk mindkét vizsgált vegyület esetében, mely akár eredhet egy gyenge HEPES-Ga-komplex-szel történő könnyebb reakcióból a különböző gallium-hidroxokomplexekhez képest.

A fentiekén kívül, a mikrofluid rendszerrel a multiparametrikus jelölési vizsgálatok eredményei alapján teszt-szintéziseket végeztünk, ahol szintén vizsgáltuk az aktivitás-retenciót a kapillárisban különböző kelátorok/kelátor-peptid konjugátumok jelenlétében. Ezeknél a méréseknél a szintézis paramétereinek kialakítása során szempont volt a megfelelő robusztusság elérése is, mivel az áramló rendszerben a reakcióelegy hordozófolyadékkal történő hígulása feltételezhető. Ennek megfelelően NOTA esetében 10 μM , NOPO esetében 1 μM kelátor-koncentrációval pH 3,0 értéknél végeztük ezeket a vizsgálatainkat, mert ezek a pontok legalább egy lépcsővel feljebb találhatóak a kvantitatív jelöléshez szükséges legalacsonyabb ligand-koncentrációnál és a környező pH tartományban is magasabb pH esetén is még RCP $\geq 95\%$

található. Így a végtermék minőséget a hordozófolyadékkal történő, akár kétszeres hígítás sem befolyásolhatja. Továbbá, a kísérletekhez választott 3,0 pH-érték megfelelő a korábbiakban megfigyelt radionuklid-visszatartás jelölési reakciókra gyakorolt hatásának vizsgálatára. Mind a kelátorok, mind pedig azok analóg-konjugátuma esetében azonos reakciókörülményeket alkalmaztunk.

Sikeres szintéziseket végeztünk NOTA, NOPO és RGD-peptid-konjugátumaik; NODAGA-c(RGD)₂ és NOPO-RGD, mint keláló ágensek használatával, továbbá a vizsgált vegyületek jelenlétében elhanyagolható mértékű (<5%) aktivitás-retenciót tapasztaltunk.

4.3. ⁶⁸Ga-NOTA-c(NGR) szintézise és alkalmazása Aminopeptidáz N (CD13) receptorok in vivo leképezésére

Munkánk során a ⁶⁸Ga-NOTA-c(NGR), mint új ciklikus peptidmotívumot tartalmazó radiofarmakon szintézisét és értékelését végeztük kísérletes tumormodell APN expressziójának kimutatására.

A ciklikus NGR peptid (c[KNGRE]-NH₂) előállítását és még a gyűrűzárási reakciót is az irodalomban a gyantán végezték. Vizsgálataink során egy hatékony alternatív szintetikus útvonalat választottunk ugyanezen peptid előállítására. A lineáris védett peptidet (Boc-Lys(ClZ)-Asn(Trt)-Gly-Arg(Pbf)-Glu(OtBu)-R) standard Fmoc/tBu stratégiával építettünk fel, melyet a védőcsoportok részleges eltávolítása és a részben védett peptid (H-Lys(ClZ)-Asn-Gly-Arg-Glu-NH₂) gyantáról való lehasítása követett TFA-val. Az N-terminális amino-csoport és a glutaminsav γ-karboxil-csoportja közötti amid-kötés kialakítását DMF oldatban, kapcsolószer hozzáadásával végeztük. A

ClZ védőcsoport folyékony HF-dal távolítottuk el és a nyers peptidet RP-HPLC-n tisztítottuk. A ciklikus NGR peptid előállítását így olyan formában tudtuk végezni, hogy a szintézis egyetlen lépése során sem tapasztaltunk deamidálást szukcinimid gyűrűzáráson keresztül. Következő lépésként, a tiszta c[KNGRE]-NH₂ peptidet sikeresen konjugáltuk *p*-SCN-Bn-NOTA-val, majd az így kialakult NOTA-c(NGR) már egyszerűen jelölhető volt ⁶⁸Ga-izotóppal 95%< radiokémiai tisztasággal és 5,13–5,92 GBq/μmol specifikus aktivitással kidolgozott jelölési eljárással.

A ⁶⁸Ga-NOTA-c(NGR) peptiddel végzett *in vitro* vizsgálataink alapján az előállított radiofarmakon erősen hidrophil (log P = -2,77 ± 0,12), illetve méréseink alapján stabil mind PBS-ben emelt hőmérsékleten (T = 95°C) több, mint 1 órán keresztül, illetve két óráig patkányszérumban 37°C-on történő inkubálás mellett. Ezek alapján a ⁶⁸Ga-NOTA-c(NGR) alkalmas molekulának bizonyult a biológiai vizsgálataink elvégzésére.

A kontroll állatokon végzett *ex vivo* és *in vivo* szervi megoszlási vizsgálatok alapján megállapítható, hogy a vizsgált ⁶⁸Ga-NOTA-c(NGR) főleg a vesén keresztül kerül kiválasztásra, mely összhangban van a mért, erősen hidrophil jellegre utaló partíciós koefficienssel. Másrésről a radiofarmakon felvétele más szervekben, különösen a hasüregben, nagyon alacsony, szemben a ⁶⁸Ga-NODAGA-[c(RGD)]₂-vel, ahol a hasüregi szervekben (máj, lép, belek) jelentős mértékű radiofarmakon-felvételt tapasztaltunk 90 perc inkubációs időt követően. Ez a ⁶⁸Ga-NODAGA-[c(RGD)]₂-hez képest kismértékű hasüregi halmozás jól korrelál más tanulmányokkal, ahol a ⁶⁸Ga-DOTA-NGR,

illetve a ^{68}Ga -NOTA-NGR szervi megoszlását vizsgálták. Továbbá, az egyes szervek alacsony aktivitása magasabb minőségű leképezést tesz lehetővé az alacsony háttérnek és a magas elérhető tumor/izom aránynak köszönhetően.

Ezt követően, ebben a projektben a szintetizált ^{68}Ga -NOTA-c(NGR), mint angiogenezis-marker tumor-specifikus halmozását hasonlítottuk össze a kereskedelemben is elérhető, $\alpha_v\beta_3$ -integrin receptor specifikus ^{68}Ga -NODAGA-[c(RGD)]₂-vel két, különböző állatmodellen, kisállat PET-szkenner segítségével. Vizsgálatainkhoz két különböző, nephroblastoma (NeDe) tumor sejtek segítségével kialakított tumormodell APN/CD13 expresszióját teszteltük. A tumormodellek kialakítása során egyrészt helyi tumorképzést indukáltunk a sejtek szubkután injektálásával, másrészt a NeDe tumoros sejtvonallal SRCA implantálásával. A két különböző tumorképzéssel készült vizsgálatok összevetésekor azt találtuk, hogy mindkét alkalmazott radiofarmkon esetében magasabb halmozás tapasztalható a primer tumorokban az SRCA modell esetében, mely különbség a tumorsejt implantálás helyéből ered. Primer tumorok indukciójának legáltalánosabban elterjedt módszere a rákos sejtek szubkután injektálása. Ennél a típusú, ektopikus beültetésnél azonban hiányoznak az ortotopikus szöveti mikrokörülmények. A tumornövekedés és vaszkularizáció jóval intenzívebb abban az esetben, ha a tumorsejtek beültetése ortotopikus helyre (pl. vese tumorok a vese vagy vesetok alatti térbe) történik, így a kedvező mikrokörnyezet elősegíti a magasabb angiogén marker expressziót, illetve a tumorsejt-proliferációt és a metasztázisok kialakulását.

A SUVátlag értékek ^{68}Ga -NOTA-c(NGR) esetében relatíve magasabbak a primer tumorokban, mint a ^{68}Ga -NODAGA-[c(RGD)]₂ farmakonnal történt méréseknél kapott eredmények, és ez a különbség szignifikáns ($p \leq 0,01$) a SUVmax és T/M arányok esetében az injektálást követő 90. percen. Emellett, a vizsgált modellben a ^{68}Ga -NOTA-c(NGR) magában hordozza annak lehetőségét, hogy akár még a dimer-RGD alapú radiofarmakonoknál is magasabb halmozást mutasson, mely különbség a ciklikus NGR peptid eltérő molekuláris célpontjának expressziós többletéből eredhet.

Jelöletlen NOTA-c(NGR)-rel történő blokkolást követően a ^{68}Ga -NOTA-c(NGR) felvétele szignifikánsan ($p \leq 0,01$) csökkent mind a két primer tumorban. Más, korábbi humán xenograft tumorokkal és ^{68}Ga -jelölt NGR-konjugátumokkal végzett vizsgálatokhoz hasonlóan, esetünkben is a sikeres blokkolás a ^{68}Ga -jelölt NOTA-c(NGR) specifikus APN/CD13 kötődésre utal, melynek jelenlétét a NeDe tumorok és metasztázisok esetében western blot vizsgálataink is igazolták.

Az angiogenezis a metasztázis létrejöttéhez kapcsolódó többlépcsős folyamat egyik előfeltétele, mely során a rákos sejt a primer tumor helyéről távoli helyre vándorol. Az APN/CD13 szerepet játszik ebben a folyamatban, ugyanis növeli a rákos sejtek invazivitását és metasztázis-képzési hajlamát, illetve a malignus sejtek vándorlását az extracelluláris mátrix bontásával is elősegítheti. Jelen projektünkben egy szingénikus állatmodellt **Hiba! A könyvjelző nem létezik.** használtunk az APN/CD13 expresszió ^{68}Ga -NOTA-c(NGR)-rel történő vizsgálatára nem csak primer tumorokban, hanem metasztatikus nyirokcsomókban

is. A NeDe tumorsejtek bal vesetok alá történő implantációja a thoracalis parathymalis (PTN) és a mesenterális nyirokcsomókban tumor metasztázis kialakulását generálja. *Ex vivo* vizsgálataink alapján az APN/CD13 receptor-specifikus halmozás metasztatikus nyirokcsomókban is tapasztalható ^{68}Ga -NOTA-c(NGR), mint radiofarmakon alkalmazásával. Ez alapján az újonnan szintetizált ^{68}Ga -jelölt NOTA-c(NGR) ígéretes nyomjelző lehet metasztázisok kimutatására is.

5. Összefoglalás

A gallium-68 radioizotóp egy generátorból nyerhető pozitronforrás, mely lehetőséget teremt PET-radiofarmakonok gyors, hatékony, a jövőben akár kit alapon történő előállítására is, ugyanis fémestulajdonságainak köszönhetően kelátor-alegységen keresztül biológiai vektorok széles skálája jelölhető vele. Vizsgálataink során a nukleáris medicinában egyre nagyobb jelentőséggel rendelkező ^{68}Ga -jelölt komplexek szintézisével, karakterizálásával és preklinikai szinten történő felhasználásával foglalkoztunk.

^{68}Ga -PET-radiógyógyszerek előállítása során meghatározó szerepe van a radioizotóppal komplexet képző kelátor-alegység kémiai sajátságainak. Egyik kísérletsorozatunk során TACN-alapú kelátorok összehasonlító radioanalitikai vizsgálatát végeztük el, mely alapján a legalább két foszfin-tartalmú szubsztituens elengedhetetlen a TRAP-típusú kelátorok esetében ismert rendkívüli nagyhatékonyságú komplexképzéshez ^{68}Ga -izotóppal, ennek megfelelően a TRAP mintázat egy foszfin-csoportja cserélhető egyéb donorra. Karboxil-csoportok jelenléte pedig semleges és gyengén savas pH-n segíti a komplexképzést, ezekkel a szerkezet-komplexképzési sajátság összefüggésekkel a jövő kelátorainak tervezését igyekeztünk segíteni.

Az előzőekben ismertetett karakterizálásra az irodalomban elsősorban kézi jelöléseket használnak, amely azonban csak lassú, nehezen reprodukálható mérési eredményekkel és viszonylag magas felhasznált anyagmennyiséggel végezhető. Ezzel szemben

mikrofluidikával kapcsolatos kutatási projektünk megvalósítása során sikeresen teszteltünk egy olyan, általunk előállított mikrofluid rendszert, amely képes ^{68}Ga -jelölési reakciók automata elvégzésére és analízisére. A rendszer használatával lehetőségünk nyílt makrociklusos kelátorok radiojelzési hatékonyságának teljes körű jellemzésére is automatizált módon, továbbá demonstráltuk, hogy folyamatos áramlásos mikrofluid rendszerben lehetséges ^{68}Ga -jelölések végrehajtása kiváló radiokémiai tisztasággal (95%<), illetve jelentős aktivitás retenció nélkül (<5%).

További vizsgálataink során magas radiokémiai tisztasággal és stabilitással állítottunk elő egy új, ^{68}Ga -jelölt radiofarmakon-készítményt, a ^{68}Ga -NOTA-c(NGR)-t, melyet APN/CD13+ NeDe sejtvonallal létrehozott szingénikus kisállat-tumormodell segítségével teszteltünk tumorok és metasztázisok kimutatására sikeresen.

6. Közlemények listája



DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR



Nyilvántartási szám: DEENK/232/2016.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Máté Gábor
Neptun kód: ORZAVL
Doktori Iskola: Molekuláris Orvostudomány Doktori Iskola

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Máté, G.**, Szikra, D., Simecek, J., Szilágyi, S., Trencsényi, G., Wester, H. J., Kertész, I., Galuska, L.: Multiparametric labeling optimization and synthesis of ⁶⁸Ga-labeled compounds applying a continuous-flow microfluidic methodology.
Journal of Flow Chemistry. 6 (2), 86-93, 2016.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1556/1846.2016.00004>
IF: 1.942 (2015)
2. **Máté, G.**, Kertész, I., Enyedli, K. N., Mező, G., Angyal, J., Vasas, N., Kis, A., Szabó, É., Emri, M., Blró, T., Galuska, L., Trencsényi, G.: In vivo imaging of Aminopeptidase N (CD13) receptors in experimental renal tumors using the novel radiotracer ⁶⁸Ga-NOTA-c(NGR).
Eur. J. Pharm. Sci. 69, 61-71, 2015.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejps.2015.01.002>
IF: 3.773
3. **Máté, G.**, Simecek, J., Priok, M., Kertész, I., Notni, J., Wester, H. J., Galuska, L., Hermann, P.: The Influence of the Combination of Carboxylate and Phosphinate Pendant Arms in 1,4,7-Triazacyclononane-Based Chelators on Their ⁶⁸Ga Labelling Properties.
Molecules. 20 (7), 13112-13126, 2015.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/molecules200713112>
IF: 2.465





További közlemények

4. Trencsényi, G., Kertész, I., Krasznai, Z. T., **Máté, G.**, Szalóki, G., Péli-Szabó, J., Kárpáti, L., Krasznai, Z., Márián, T., Goda, K.: 2' [18F]-fluoroethylrhodamine B is a promising radiotracer to measure P-glycoprotein function.
Eur. J. Pharm. Sci. 74, 27-35, 2015.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejps.2015.03.026>
IF: 3.773
5. Sipos, A., **Máté, G.**, Röth, E., Borbás, A., Batta, G., Bereczki, I., Kéki, S., Jóna, I., Ostorházi, E., Rozgonyi, F., Vanderlinden, E., Naesens, L., Herczegh, P.: Synthesis of fluorescent ristocetin aglycon derivatives with remarkable antibacterial and antiviral activities.
Eur. J. Med. Chem. 58, 361-367, 2012.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2012.10.030>
IF: 3.499

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 15,452

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapján szolgáló közleményekre): 8,18

A DEENK a Jelölt által az iDEA Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudományometriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2016.09.20.



7. Előadások, poszterek jegyzéke

7.1 Előadások jegyzéke

1. **Máté Gábor**, Szikra Dezső, Šimeček Jakub, Kertész István, Wester Hans-Jürgen, Galuska László Microfluidic Labelling - an Efficient Way for the Optimization and Production of ^{68}Ga -Radiopharmaceuticals Annual Congress of the European Association of Nuclear Medicine, 2014. október 18-22. Göteborg, Svédország
2. Szikra Dezső, **Máté Gábor**, Nagy Gábor ^{68}Ga -microfluidics, COST meeting, 2014. július 12. Varsó, Lengyelország
3. **Máté Gábor**, Szikra Dezső, Šimeček Jakub, Kertész István, Wester Hans-Jürgen, Galuska László Taking Ga-68 labeling optimization to the fast line with a new microfluidic system, Annual Meeting of the Society of Nuclear Medicine and Molecular Imaging, St. Louis, USA, 2014. június 7-11.
4. **Máté Gábor**, Šimeček Jakub, Notni Johannes, Galuska László, Wester Hans-Jürgen, Kertész István Radiochemical Evaluation of Phosphinic, Carboxylic and Mixed Chelators for Gallium-68; Annual Congress of the European Association of Nuclear Medicine, 2013. október 19-23. Lyon, Franciaország; Absztrakt elérhetőség: Eur. J. Nucl. Med. 2013 40:S116-S116.

5. **Máté Gábor**, Szikra Dezső, Kertész István, Galuska László
⁶⁸Ga-kelátorok komplexképzési reakcióinak mikrofluidikai optimalizálása; Őszi Radiokémiai Napok, 2013. október 16-18. Eger. (az előadás a konferencián a Vértess Attila Nívódíj – Különdíj kitüntetésben részesült.)
6. **Máté Gábor**, Kertész István, Galuska László, Šimeček Jakub, Notni Johannes: Aszimmetrikusan szubsztituált ⁶⁸Ga-kelátorok összehasonlító vizsgálata; Hevesy György Magyar Orvostudományi Nukleáris Társaság XVIII. Kongresszusa, Pécs, Tudásközpont, 2013. június 30 – július 2.
7. Kertész István, **Máté Gábor**, Márián Teréz, Leiter Éva, Trencsényi György: Sziderofórok jelölése ⁶⁸Ga-mal; Hevesy György Magyar Orvostudományi Nukleáris Társaság XVIII. Kongresszusa, Pécs, Tudásközpont, 2013. június 30 – július 2.
8. **Máté Gábor**: Experimental Investigation of Highly-Efficient ⁶⁸Ga-Chelators for Radiopharmaceutical Purposes; European Medical Students' Conference, Debrecen, 2012. október 19-22.
9. **Máté Gábor**, Kertész István, Šimeček Jakub, Wester Hans-Jürgen: Nagy hatékonyságú ⁶⁸Ga-kelátorok vizsgálata radiógyógyszerészeti felhasználásra; MKE Őszi Radiokémiai Napok 2012, Siófok, 2012. október 8-10.

10. Kertész István, **Máté Gábor**, Trencsényi György, Márián Teréz: Sziderofórok radiojelölése ^{68}Ga -mal az aszpergillózis kimutatására PET technikával; MKE Őszi Radiokémiai Napok 2012, Siófok, 2012. október 8-10.
11. Kertész István, **Máté Gábor**, Trencsényi György, Márián Teréz: Trial-labelling of Siderophores with Ga-68; MTA DAB II. sz. Orvostudományi és Biológiai Szakbizottság Nukleáris Medicina Munkabizottság tudományos ülése, Debrecen, 2012. szeptember 13.
12. Kertész István, **Máté Gábor**, Halmos Gábor, Mező Gábor: Peptidek nyomjelzése pozitron-sugárzó izotópokkal; MTA Peptidkémiai Munkabizottság 2012. évi tudományos ülése, Balatonszemes, 2012. május 30.
13. Sipos Attila, **Máté Gábor**, Török Zsolt, Róth Erzsébet, Borbás Anikó, Batta Gyula, Bereczki Ilona, Kéki Sándor, Jóna István, Rozgonyi Ferenc, Ostorházi Eszter, Evelien Vanderlinden, Lieve Naesens, Herczegh Pál: Fluoreszcens teikoplanin-pszepseudo-aglikon és risztocetin-aglikon származékok szintézise és farmakológiai jellemzése; MTA Szénhidrát, Nukleinsav és Antibiotikum Munkabizottsága 2012. évi tudományos ülése, Debrecen, 2012. május 31. – június 1.

7.2 *Posztterek jegyzéke*

1. Kertész István, **Máté Gábor**, Enyedi N. Katalin, Szikra Dezső, Trencsényi György, Márián Teréz, Mező Gábor: Design, synthesis and radiolabelling of NGR peptides with ^{68}Ga ; Annual Congress of the European Association of Nuclear Medicine, 2014. október 18-22. Göteborg, Svédország
2. Kertész István, Kárpáti Levente, **Máté Gábor**, Péliné Szabó Judit, Nagy Tamás, Trencsényi György, Márián Teréz: Synthesis and in vitro application of 2'-[^{18}F]fluoroethylrhodamine B for detecting multidrug resistance; Annual Congress of the European Association of Nuclear Medicine, 2013. október 19-23. Lyon, Franciaország; Absztrakt elérhetőség: Eur. J. Nucl. Med. 2013 40:S283-S283.
3. P. Szabó Judit, Trencsényi György, Nagy Tamás, **Máté Gábor**, Kertész István, Krasznai Zoárd T., Márián Teréz: A [^{18}F]fluoroetil-rodamin B a multidrog-rezisztencia kimutatására alkalmas PET tracer; Hevesy György Magyar Orvostudományi Nukleáris Társaság XVIII. Kongresszusa, Pécs, Tudásközpont, 2013. június 30 – július 2.