

**Doktori (PhD) értekezés tézisei**

**Radiojelzett ciklodextrinek szerepe kísérletes  
daganatok metasztázisainak *in vivo* PET  
képalkotásában**

Kálmán-Szabó Ibolya

Témavezető: Dr. Trencsényi György



DEBRECENI EGYETEM

PETRÁNYI GYULA KLINIKAI IMMUNOLÓGIAI ÉS ALLERGOLOGIAI  
DOKTORI ISKOLA

Debrecen, 2025

**Radiojelzett ciklodextrinek szerepe kísérletes daganatok  
metasztázisainak *in vivo* PET képalkotásában**

Értekezés a doktori (PhD) fokozat megszerzése érdekében  
a Klinikai orvostudományok tudományágban

Írta: Kálmán-Szabó Ibolya okleveles molekuláris biológus

Készült a Debreceni Egyetem Petrányi Gyula Klinikai Immunológiai és  
Allergológiai doktori  
iskolája keretében

Témavezető: Dr. Trencsényi György, PhD

Az értekezés bírálói:

Dr. Besenyi Zsuzsanna, PhD  
Prof. Dr. Bay Péter, az MTA doktora

A bírálóbizottság:

elnök: Prof. Dr. Antal-Szalmás Péter, az MTA doktora  
tagok: Dr. Besenyi Zsuzsanna, PhD  
Prof. Dr. Bay Péter, az MTA doktora  
Dr. Györke Tamás, PhD  
Dr. Pető Katalin, PhD

Az értekezés védésének időpontja: Debreceni Egyetem ÁOK,  
Belgyógyászati Intézet „A” épület Tanterme, 2025. november 21. 13:00

## 1. A doktori értekezés előzményei és célkitűzései

A WHO (Egészségügyi Világszervezet) jelentése szerint 2020-ban világszerte közel 10 millió halálesetet okoztak a különböző tumoros megbetegedések. Az elmúlt évtizedekben a több mint 120 féle ráktípus gyógy módjának megtalálására fordított jelentős kutatási erőfeszítések ellenére a rendelkezésre álló terápiás lehetőségek gyakran korlátozottak, ezért az elváltozások korai diagnosztikája képalkotó technikákkal, mint például a pozitronemissziós tomográfia (PET), kulcsfontosságú a hosszú távú túléléshez. A PET technikához olyan radionuklidokra van szükség, amelyek több követelménynek is megfelelnek, mint például: (i) a sugárzás energiája olyan tartományban legyen, amely elég magas ahhoz, hogy kijusson a beteg testéből, de elég alacsony ahhoz, hogy a detektorok által érzékelhető legyen (PET esetén 511 keV); (ii) az adott radionuklid felezési idejének ( $t_{1/2}$ ) elég hosszúnak kell lennie, hogy a radiofarmakon előállítás után a vizsgálni kívánt elváltozás vagy biológiai folyamat vizsgálható legyen, de elég rövidnek kell lennie ahhoz, hogy elkerüljük a vizsgált szövetek és szervek jelentős károsodását; (iii) a radionuklidoknak olcsónak és könnyen hozzáférhetőnek kell lenniük.

A rosszindulatú melanoma jelentős közegészségügyi probléma, amelynek előfordulása és az ebből eredő halálozás folyamatosan növekszik a kaukázusi népesség körében, ezért időben történő felismerése rendkívül fontos, így az elmúlt évtizedekben az ezirányú kutatások dinamikusan fejlődtek. A melanoma folyamatosan növekvő incidenciája mellett komoly kockázatot jelent jelentős áttétképző képessége, amely folyamat a betegség igen korai stádiumában elindul és sokszor a még kis méretű primer tumor mellett már számos szervben megjelennek a metasztázisok (például: agy,

máj tüdő, stb.). Éppen ezért fontos a betegség korai felismerése, hiszen az áttétek kialakulása jelentősen csökkenti a betegek túlélési esélyeit. A PET technika máig leggyakrabban alkalmazott ágense a 2-[<sup>18</sup>F]fluoro-2-deoxid-glükóz ([<sup>18</sup>F]FDG), amely glükózszármazékként rendkívül jól potenciállal rendelkezik a megnövekedett metabolikus aktivitással rendelkező elváltozások diagnosztikájában. Ugyanakkor, a [<sup>18</sup>F]FDG alkalmazásának megvannak a maga hátrányai is, hiszen a gyulladásozó folyamatok során is jelentős akkumulálódás mutat, valamint a központi idegrendszer sejtjei is jelentősen halmozzák, amely nagymértékben megnehezíti a kapott képek elemzését/értelmezését, a beteg és egészséges szövetek elkülönítését. Ezekon túl, a [<sup>18</sup>F]FDG általános tumordiagnosztikumnak minősül, hiszen nem specifikus egyetlen ráktípusra sem, így egyenletesen oszlik el a szervezetben.

A szerv, vagy szövetspecifikusság eléréséhez olyan nyomjelzők (target molekulák) alkalmazására van szükség, amelyek nagy affinitást mutatnak az adott típusú elváltozásokhoz, a bejuttatott radiofarmakont stabilan és hosszabb időn keresztül képesek a célsejtekhez kötni, így növelve a PET technika hatékonyságát.

Doktori munkám során <sup>52</sup>Mn, <sup>61</sup>Cu és <sup>213</sup>Bi izotópokkal jelölt radiofarmakonokat állítottunk elő és vizsgáltuk azok tumorcélzó képességét és diagnosztikai potenciálját PET alkalmazások tekintetében. Az előállított anyagok ciklodextrin (<sup>52</sup>Mn), DOTA (<sup>213</sup>Bi) és 15aneN<sub>5</sub>-alapú (<sup>61</sup>Cu) kelátorokat tartalmaztak a radioaktív fémionok megkötésére. A tumorspecifikusság eléréséhez a <sup>52</sup>Mn és <sup>61</sup>Cu esetében NAPamid, míg a <sup>213</sup>Bi esetében NAP-, FOLD-, HOLD- és MARSamid molekulákat alkalmaztunk.

Doktori munkám célkitűzései a következők voltak:

- Célunk volt az általunk szintetizált új, mangán-52-vel jelzett random-metilált béta-ciklodextrin ( $[^{52}\text{Mn}]\text{Mn-DOTAGA-RAMEB}$ ) *in vivo* tumor-targetáló képességét és biológiai viselkedését tanulmányozni és a kapott eredményeket összehasonlítani a már irodalomból ismert melanocortin-1 receptor (MC1-R) specifikus  $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-DOTA-NAPamid}$  és PGE2-receptor szelektív  $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-DOTAGA-RAMEB}$  radiofarmakonokkal.
- Vizsgálni kívántuk az általunk melanoma kimutatására fejlesztett MC1-R specifikus  $[^{61}\text{Cu}]\text{Cu-KFTG-NAPamid}$  tumorcélzó képességét B16-F10 melanoma modellen és mellkasi áttétein.
- Tanulmányozni akartuk újonnan szintetizált és  $^{213}\text{Bi}$ -vel jelzett MC1-R ligandumok (DOTA-NAPamid, HOLDamid, MARSamid és FOLDamid) biológiai eloszlását és experimentális melanoma tumor célzó tulajdonságait.
- Továbbá, információt szeretnénk volna gyűjteni a PGE2 specifikus  $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-DOTAGA-RAMEB}$  és  $[^{52}\text{Mn}]\text{Mn-DOTAGA-RAMEB}$ ; illetve melanocortin-1-receptor (MC1-R) specifikus  $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-DOTA-NAPamid}$  és  $[^{61}\text{Cu}]\text{Cu-KFTG-NAPamid}$  targetáló képességéről mellkasi melanoma metasztázisokat esetében.

## **2. Anyagok és módszerek**

### **2.1. Kísérleti sejtvonala és fenntartása**

A B16-F10 (egér eredetű melanotikus melanoma) sejtvonala beszerzése az ATCC-től (Virginia, USA) történt. A sejtenyésztéshez 10% magzati szarvasmarha szérumot (FBS) tartalmazó Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) tápoldatot alkalmaztunk, melyet 1% antimikotikum-antibiotikum, továbbá MEM nem esszenciális aminosav oldatot (1 (V/V)%); Gibco™) és MEM vitamin oldatot (1 (V/V) %); Gibco™) adtuk.

### **2.2. Kísérleti állatok**

A kísérleteinkben használt C57BL/6J egereket (melyeket a Charles River Laboratories-től szereztünk be (Animalab Ltd., Budapest)) hagyományos laboratóriumi körülmények között tartottunk. A kísérleti egerek egyedileg szellőztetett ketrecekben voltak,  $24 \pm 2$  °C hőmérsékleten,  $55 \pm 10\%$ -os páratartalom mellett. Mesterséges megvilágítást alkalmazunk az állatházban 12 órás cirkadián ciklussal. Steril félszintetikus takarmányt (Akronom Ltd., Budapest, Magyarország) és ivóvizet ad libitum biztosítottunk az állatoknak. Az Egyesült Királyság Állatkísérleti Etikai Bizottság kritériumainak megfelelően, a Debreceni Egyetem Állatkísérleti Etikai Bizottságának engedélyével (engedélyszám: 16/2022/DEMÁB) történt az állatok beszerzése és tartása.

### **2.3. *In vivo* melanoma tumormodell**

Tíz hetes nőstény C57BL/6J egereket ( $n = 65$ ) használtunk a vizsgálatok során. Az MC1-R pozitív-, illetve PGE2-R pozitív melanoma tumorindukcióhoz, C57BL/6J egerekbe szubkután (s.c.) a bal váll

területére, illetve a metasztázis modell esetén intravénásan a laterális farki vénába  $1 \times 10^6$  MC1-R-pozitív B16-F10 tumorsejtet injektáltunk 100  $\mu\text{l}$  0,9% sóoldatban. *In vivo* PET vizsgálatot, majd *ex vivo* kísérleteket végeztünk  $14 \pm 1$  nappal a tumorsejtek beadását követően,  $115 \pm 10$   $\text{mm}^3$ -es tumortérfogat mellett.

## **2.4. Felhasznált radiofarmakonok**

### **2.4.1. [ $^{18}\text{F}$ ]FDG szintézise**

Az [ $^{18}\text{F}$ ]FDG előállítása intézetünkben rutinszerűen történik, elsősorban onkológiai betegek diagnosztikai vizsgálatának kivitelezése céljából. Az előállításhoz szükséges  $^{18}\text{F}$ -ion gyártása ciklotronban,  $^{18}\text{O}$ -cal dúsított víz protonnyaláb általi bombázásával történik. Az így előállított  $^{18}\text{F}$ -iont egy automatizált FDG gyártó panelre helyezik, ahol a prekursor (vízmentes acetonitrilben oldott trifluormetánszulfonil- $\beta$ -D-mannóz (TATM)) jelölése nukleofil szubsztitúcióval történik. A szubsztitúciós reakció  $85$   $^\circ\text{C}$ -on játszódik le. A reakció terméke a 1,3,4,6(TA- $^{18}\text{F}$ )FDG) védő acetylsoportokat tartalmaz, melyeket savas hidrolízissel távolítanak el, sósav felhasználásával. A hidrolízist zárt reakcióedényben magas hőmérsékleten ( $120$   $^\circ\text{C}$ ) és nagy nyomás alatt végzik. A folyamat végterméke, a 2- $^{18}\text{F}$ fluor- $\beta$ -D-dezoxi-glükóz, amelyet fiziológiás sóoldattal hígítanak a kívánt koncentrációra.

### **2.4.2. $^{52}\text{Mn}$ -DOTAGA-RAMEB szintézise.**

100  $\mu\text{l}$  0,1 M HCl-oldatban volt lévő  $^{52}\text{Mn}$ -t összekevertünk 2 M nátrium-acetát pufferrel ( $V=500$   $\mu\text{l}$ ) azért, hogy beállítsuk a pH-t (7,0). Ezt követően a DOTAGA-RAMEB-et ( $c=3$  mM,  $V=10$   $\mu\text{l}$ ) a reakcióelegyhez

adtuk egy reakcióüvegben, amelyet 10 percig 95 °C-on történő melegítést követően szobahőmérsékletűre hűtöttünk.

A formulázáshoz az oldatot ultraszűrő oszlopra Light C18 Sep-Pak Cartridge-re (Waters Kft. Budapest, Magyarország) vittük fel, majd 1 ml vízzel mostuk. A radioaktívan jelzett terméket ( $[^{52}\text{Mn}]\text{Mn-DOTAGA-RAMEB}$ ) 300  $\mu\text{l}$  96%-os EtOH-val eluáltuk. A teljes eluátumot 95 °C-on nitrogénáramoltatással közel szárazra pároltuk, majd izotóniás NaCl-oldatban újra feloldottuk.

Azonnali vékonyréteg-kromatográfiát (iTLC-SG, Varian) végeztünk 0,5 M nátrium-citrát oldatot, pH=5,5, mobilfázisként használva a radiojelzés sikerességének és hozamának meghatározásához. A formulázott termékből ( $[^{52}\text{Mn}]\text{Mn-DOTAGA-RAMEB}$ ) 3  $\mu\text{l}$ -t cseppentettünk az iTLC-SG csíkokra az aljától 2 cm-re, és az oldószert a csíkok aljától 10 cm-re engedték felfutni. A radioaktívan jelölt RAMEB a felviteli ponton maradt, míg a szabad  $^{52}\text{Mn}$  az oldószerszéllel együtt vándorolt. Az egyes sávok elemzése a MiniGITa TLC készülék segítségével (Elysia-raytest GmbH, Straubenhardt, Németország) történt. A radioaktívan jelzett terméket steril szűrés után izotóniás (0,9%-os) sóoldattal hígítottuk a biológiai kísérletek elvégzése előtt.

#### **2.4.3.DOTA-NAPamid radiojelzése $^{68}\text{Ga}$ radionukliddal**

A  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  generátort 5 ml 0,05 M u.p. HCl-lel eluáltuk, majd bemértünk 375  $\mu\text{l}$   $^{68}\text{Ga}$ -oldatot (80-130 MBq) a legnagyobb aktivitású aliquotból, amelyet összekevertünk 120  $\mu\text{l}$   $\text{NH}_4\text{OAc}$  pufferrel (0,5 M, pH=4) és 5  $\mu\text{l}$  DOTA-NAPamid törzsoldattal (1 mg/ml, 0,673 M) és a reakciót 15 percig 95 °C-on inkubáltuk. Az említett idő elteltével az oldatot átvittük egy előkondicionált (1 ml 96%-os EtOH, 5 ml  $\text{H}_2\text{O}$ ; 1 ml 0,25 M,

pH = 4 M NH<sub>4</sub>OAc) Strata-X oszlopra, majd 1 ml vízzel mostuk. A puffer eltávolítása után 300 µl 96%-os EtOH-lal eluáltuk. Az oldószert elpárologtattuk 95 °C-on nitrogénáramoltatás mellett. A száraz terméket 200 µl PBS-ben oldottuk. A termék RCP-jét radio-HPLC-vel határoztuk meg egy Waters Acquity BEH C18, 1,7 µm, 3 × 50 mm-es oszlopon. Eluensek: A = oxálsav (0,01 M, pH = 3), B = ACN:H<sub>2</sub>O (9:1), áramlás: 0,9 ml/perc, gradiens: 0 perc: 100% A, 1 perc: 100% A, 2,5 perc: 100% B, 3 perc: 100% B, 3,1 perc: 100% A

#### **2.4.4. DOTAGA-RAMEB radiojelzése <sup>68</sup>Ga izotóppal**

A <sup>68</sup>Ge/<sup>68</sup>Ga generátorból kinyert 1 ml <sup>68</sup>Ga eluátumot nátrium-acetáttal puffereltük (1 M, 160 µl), hogy a megfelelő pH-értéket beállítsuk (pH = 4,3-4,5). Az így előkészített mintához hozzáadtuk a DOTAGA-RAMEB vizes oldatát (5 µl, 3 mM), majd a rendszert 95 °C-on tartottuk 10 percig és ezt követően egy Light C18 Sep-Pak oszlopra vittük fel, amit 2 ml vízzel mostunk. A <sup>68</sup>Ga jelölt terméket ([<sup>68</sup>Ga]Ga-DOTAGA-RAMEB) 96%-os EtOH/izotóniás NaCl oldat 1:2 arányú elegyével eluáltuk. A radiokémiai tisztaság meghatározása radiodetektorral kombinált RP-HPLC rendszerrel történt. A terméket 0,9%-os NaCl oldattal hígítottuk azért, hogy az etanol-tartalmat 10% alá csökkentsük, majd sterilre szűrés következett az állatkísérletek előtt.

#### **2.4.5. [<sup>61</sup>Cu]Cu-KFTG-NAPamid szintézise**

A KFTG-NAPamide előállításához, HBTU-t (7 mg, 0,018 mmol) 1 ml vízmentes DMF-ben (dimetil-formamid), DIPEA-t (3 µL, 0,017 mmol) és *bis*(Boc)-KFTG-t (5 mg, 0,007 mmol) 1 ml vízmentes DMF-ben adtunk a védett rezinhez kötött NAPamidhoz (30 mg, 0,0045 mmol). Az így kapott keveréket 3 óras, szobahőmérsékleten történő rázatást követően mostuk

vízmentes DMF-fel. Az anyag hidrolízise 1 ml 95 % TFA-val történt. A 6 órás rázatást követően a TFA-t eltávolítottuk és a visszamaradt nyersterméket szemipreparatív RP-HPLC-vel tisztítottuk, amihez Luna C18(2) 100 Å10 µm (250 × 10 mm) kolonnát használtunk 4 ml/min áramlási sebesség mellett. Az eluensek a következők voltak: A: 0,1% HCOOH, B: 95% acetonitril, gradiens: 0 perc: 100% A, 2 perc: 100% A, 32 perc: 100% B, 40 perc 100% B. A terméket az elválasztás 15. és 16. perce között gyűjtöttük. A liofilizálást követően fehér por formájában kaptuk meg a KFTG-NAPamidot (1,3 mg, 20 %-os kitermelés). A HRMS-ESI (electrospray ionization high-resolution mass spectrometry) mérés 728,9174 [M+H]<sup>2+</sup> és 486,2832 [M+H]<sup>3+</sup> mőtömegeket eredményezett, míg az ezekhez a részecskékhez tartozó számolt értékek: 728,9204 [M+H]<sup>2+</sup> és 486,2829 [M+H]<sup>3+</sup>.

A <sup>61</sup>Cu előállítás a cink fóliával történt (Sigma Aldrich, 99,999%, 10x10x0,1 mm, 0,25 mm vastag), amelyet 15,5 MeV proton nyalábbal sugároztunk be (30 perc, 20 µA) egy GE PETtrace ciklotron segítségével. A kapott <sup>61</sup>Cu aktivitás a Ga-tól történő megtisztítás után 250-330 MBq tartományba esett. A besugárzott cink lemezt 2 ml 7 M-os HNO<sub>3</sub>-ban oldottuk, majd az erősen savanyú oldatot 5 ml ammonium-formiát oldattal kevertük össze (*c* = 2,5 M) azért, hogy a pH-értékét körülbelül 2-esre állítsuk. Az oldatot ezután CU rezin kolonnára vittük (6 x 9 mm). Miután a kolonnát 10 ml vízzel mostuk, a kolonnán marad aktivitást 0,5 mL 7 M HCl oldattal mostuk le és szárazra pároltuk. A kapott szilárd anyagot vagy 0,01 M HCl vagy HEPES pufferben oldottuk (4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid, pH = 7).

A jelölési kísérletek során úgy jártunk el, hogy 5  $\mu$ l 1 mg/ml-es KFTG-NAPamid oldatot adtunk körülbelül 100 MBq-nyi  $^{61}\text{Cu}$  izotóphoz 50  $\mu$ l 1 M HEPES pufferben (pH = 7) és melegítettük az oldatot 95 °C-on 15 percig, zárt Eppendorf csőben. Ezt követően az oldatot 1 ml vízzel hígítottuk és egy Waters light C18 SPE kolonnára vittük. A vízzel történő mosást követően a jelölt konjugátumot 500  $\mu$ L salin-etanol 1:1 oldószer keverékkel eluáltuk. Az oldatot ezután közel szárazra pároltuk és salin oldattal hígítottuk. Radiokémiai tisztaságot radio-TLC-s technikával ellenőriztük, ammonium-acetát – metanol 1:1 arányú elegyével. A minta moláris aktivitása 52-58 MBq/nmol-nak adódott.

#### **2.4.6. $^{205/206}\text{Bi}$ és $^{213}\text{Bi}$ előállítás, majd DOTA-konjugált peptidek radiojelzése**

$^{205/206}\text{Bi}$  előállítása és tisztítása volt az első lépés. Természetes Pb-fóliát (99,995%-os, 0,9 x 0,9 cm-es, 0,25 mm) GE PETtrace ciklotronban 16 MeV-os protonnyalábbal bombáztunk (60 perc, 10  $\mu$ A). A besugárzott Pb céltárgyat 7 M szuprapur  $\text{HNO}_3$ -ban (2 ml) feloldottuk, és bepároltuk 1 ml végtérfogatra, ahol  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  kicsapódását figyeltük meg. A kapott oldatot, azért, hogy a szilárd fázistól elválasszuk, 10 ml ultratiszta vízzel kevertük, majd Millipore 0,22  $\mu$ m-es szűrővel szűrtük. Ezután felvittük egy 150 mg TK 200 gyantával öntöltött oszlopra (előkondicionálva 1 ml 0,7 M s.p.  $\text{HNO}_3$ , 1 ml 7 M s.p.  $\text{HNO}_3$  és 5 ml 0,7 M s.p.  $\text{HNO}_3$ ). A oszlopot 5 ml 0,7 M s.p.  $\text{HNO}_3$ -mal mostuk, és a  $^{205/206}\text{Bi}$  izotópokat 7 M s.p.  $\text{HNO}_3$ -mal eluáltuk 1 ml térfogatú frakciókban. A  $^{205/206}\text{Bi}$  izotópokat (~30 MBq) tartalmazó frakciókat szárazra pároltuk, majd 200  $\mu$ l 0,1 M u.p. HCl-ben oldottuk fel.

Actinum-225/Bizmut-213 ( $^{225}\text{Ac}/^{213}\text{Bi}$ ) generátor elúciója: a  $^{225}\text{Ac}/^{213}\text{Bi}$  generátort (180 MBq) az Institute for Transzuran Elemek Intézete (Németország) (ITU) szállította. Az elúció előtt az oszlopot 0,01 M sósavval mostuk. Az elúció során 600  $\mu\text{l}$   $^{213}\text{Bi}$ -ot nyertünk, 0,1 M nátrium-jodid / 0,1 M HCl keverék segítségével. Elúció után az oszlopot 0,01 M HCl-ben tároltuk.

A DOTA-konjugált peptidekből 1 mg/ml törzsoldatot készítettünk. Az *in vivo* vizsgálatok esetén 5  $\mu\text{L}$  DOTA-NAPamid (3,4 nmol)/DOTA-HOLDamid (3,2 nmol), illetve 10  $\mu\text{L}$  DOTA-MARSamid (5,6 nmol) és DOTA-FOLDamid (5,6 nmol) oldatokhoz 600  $\mu\text{l}$   $^{213}\text{Bi}$ -t ( $96,01 \pm 17,49$  MBq) és 135  $\mu\text{l}$  2 M TRIS puffert (0,34 M) és 50  $\mu\text{l}$  20%-os aszkorbinsavat (72 mM) adtunk (pH=8,7).

A *LogP*-értékek és a stabilitás meghatározásához 20  $\mu\text{L}$   $^{205/206}\text{Bi}$ -t adtunk a radioaktívan jelölt peptidek nátrium-citrát pufferben lévő (pH 5,5, 30-35  $\mu\text{mol}$ ) törzsoldatának keverékéhez (pH=5,5, 30-35  $\mu\text{mol}$ ; 10,1 nmol DOTA-NAPamid, 9,6 nmol DOTA-HOLDamid, 8,4 nmol DOTA-MARSamid és -FOLDamid). A reakciókat 5 percig inkubáltuk 95 °C-on. Szobahőmérsékletre hűtve az elegyet 400  $\mu\text{l}$  1 M ammónium-acetátot ( $\text{NH}_4\text{OAc}$ ; pH=4) adtunk hozzá, majd etanollal és vízzel előkondicionált szilárdfázisú extrakciós (SPE) oszlopon keresztül vezettük (Oasis HLB 1 cc (30 mg); Waters). Az oszlopot ezután 1 ml vízzel mostuk. A radiojelzett termék cseppenkénti elúcióját az oszlopról 200  $\mu\text{L}$  etanollal végeztük. Ezt követően 60 °C-on szárazra pároltuk. A terméket feloldottuk 200  $\mu\text{l}$  foszfáttal pufferelt sóoldatban (PBS) az *in vivo* mérésekhez, illetve 30  $\mu\text{l}$  PBS-ben a *LogP*-értékek és a stabilitás meghatározásához. A radiokémiai tisztaságot azonnali vékonyréteg-kromatográfiával határoztuk meg,

szilikagéllal impregnált (iTLC-SG; Varian) radio-TLC segítségével, ahol 0,1 M nátrium-citrát oldatot (pH=5,5) használtunk mobilfázisként.

## **2.5. LogP értékek meghatározása**

Radioizotóppal konjugált vegyületeink oktanol/PBS megoszlási hányadosát minden esetben meghatároztuk, amely a molekulák vízdékonyságára utalnak a szervezeten belüli pH-értéken vizsgálva (pH=7,4). A  $\log P$  értéke a vizsgált, radioizotóppal jelölt vegyületek célszervezetben várható viselkedéséről, farmakokinetikai tulajdonságairól nyújtanak előzetes információt. A vizsgált anyaginkból minden esetben 10  $\mu\text{l}$ -t kevertünk 1-oktanol (500  $\mu\text{l}$ ) és PBS (490  $\mu\text{l}$ , pH 7,4) „elegyével” egy centrifugacsőben. Az elegyet ezután 20 percig kevertettük rázógép (Vortex) alkalmazásával (600 rpm), majd ezután 5 percig centrifugáltuk 20000 fordulat/perc sebességgel 4 °C-on, a két fázis teljes szétválásáig. A fázisokból 3 x 100  $\mu\text{l}$  térfogatú részeket kémcsövekbe mértünk, majd meghatároztuk azok radioaktivitását Perkin Elmer Packard Cobra kalibrált gamma-számlálóval. A mérési eredményeket átlagolva kaptuk meg a  $\log P$ -értéket.

## **2.6. *In vivo* és *ex vivo* vizsgálatok**

Az állatkísérleteket a Debreceni Egyetem Munkahelyi Állatjóléti Bizottsága (16/2020/DEMÁB) etikai jóváhagyásával végeztük. A tanulmánytervezés és az állatkísérletek összhangban voltak az ARRIVE irányelvvel.

### **2.6.1. [<sup>52</sup>Mn]Mn-DOTAGA-RAMEB PET vizsgálata B16-F10 melanoma tumoros egérmodellben**

A PET-képkeltő méréseket a Nukleáris Medicina Tanszék preklinikai laboratóriumának MiniPET-II szkennerevel végeztük (Debreceni Egyetem, Debrecen, Magyarország).

A képkeltő protokollt a B16-F10 tumorral rendelkező egerek  $6,90 \pm 1,19$  MBq [<sup>68</sup>Ga]Ga-DOTAGA-RAMEB (i.v.) injekciójával kezdtük, amelyet 60 perccel az injekció beadása után PET-képkeltés követett. Huszonnégy órával az első felvétel után, 20 perces PET-vizsgálatokat végeztünk valamennyi vizsgált egéren 80 perccel a  $10,07 \pm 0,07$  MBq [<sup>68</sup>Ga]Ga-DOTA-NAPamid intravénás beadása után. Egy nappal később  $3,50 \pm 0,16$  MBq [<sup>52</sup>Mn]Mn-DOTAGA-RAMEB-et adtunk be az egereknek, és az injekció beadása után 1 órával, 4 órával és 3 nappal 20 perces statikus PET-vizsgálatokat végeztünk. Az izoflurán-indukált anesztéziát minden képkeltési időszak alatt fenntartottuk [3%-os izoflurán (Forane), AbbVie, Budapest, Magyarország; OGYI-T-1414/01].

### **2.6.2. [<sup>52</sup>Mn]Mn-DOTAGA-RAMEB *ex vivo* biodisztribúciós vizsgálata B16-F10 melanoma tumor egérmodellben**

A biodisztribúciós vizsgálatokhoz 30, 60, 90 és 240 perccel a  $3,50 \pm 0,16$  MBq [<sup>52</sup>Mn]Mn-DOTAGA-RAMEB iv. beadását követően egészséges kontroll egerekbe, feláldoztuk őket, és a főbb szerveket begyűjtöttük, hogy kalibrált gammaszámláló (PerkinElmer) segítségével meghatározzuk a radioaktivitásukat. A B16-F10 tumorok radioaktivitásának *ex vivo* méréséhez a tumoros egereknél ugyanezt az eljárást alkalmaztuk 60 perccel az injekció beadását követően.

### **2.6.3. [<sup>61</sup>Cu]Cu-KFTG-NAPamid PET vizsgálata B16-F10 melanoma egérmodellben**

Az *in vivo* képalkotó vizsgálatokhoz B16-F10 tumort hordozó egereket intravénásan  $10,3 \pm 0,3$  MBq [<sup>61</sup>Cu]Cu-KFTG-NAPamiddal injektáltunk be az oldalsó farokvénán keresztül, és dinamikus PET-vizsgálatokat végeztünk, 1,5%-os izoflurán (Forane, AbbVie) altatásban (Tec3 Isoflurane Vaporizer, Eickemeyer Veterinary Equipment, Egyesült Királyság).

### **2.6.4. [<sup>61</sup>Cu]Cu-KFTG-NAPamid *ex vivo* biodisztribúciós vizsgálata B16-F10 melanoma egérmodellben**

8±1 nappal a tumorsejtek beoltása után B16-F10 tumort hordozó egereknek  $10,3 \pm 0,3$  MBq [<sup>61</sup>Cu]Cu-KFTG-NAPamidot adtunk be intravénásan, majd 30-, 60-, 90- és 180 perces inkubációs idő után az egereket 5%-os izofluránnal túlaltattuk. Szövetmintákat vettünk a kiválasztott szervekből, és a minták súlyát, valamint radioaktivitását kalibrált gammaszámlálóval (Hewlett Packard Cobra II Autogama Gamma Counter, USA) mértük.

### **2.6.5. [<sup>213</sup>Bi]Bi-DOTA konjugált NAPamid, HOLDamid, FOLDamid és MARSamid *ex vivo* biodisztribúciós vizsgálatai B16-F10 melanoma egérmodellben**

Az *ex vivo* biodisztribúciós vizsgálatokat 90 perccel a  $3,81 \pm 0,32$  MBq [<sup>213</sup>Bi]Bi-DOTA konjugált NAPamid, HOLDamid, FOLDamid és MARSamid intravénás beadása után végeztük el. Az eutanáziát 5%-os izofluránnal végeztük, majd szövetmintákat vettünk az egészséges kontroll és a B16-F10 tumorral rendelkező kísérleti állatokból. A különböző szervek

radioaktivitását gamma-számlálóval (Packard, Cobra II) mértük, majd tömegegységre viszonyítva kiszámoltuk az értékeket. A radiofarmakon-felhalmozódásokat ezt követően %ID/g szövetben fejeztük ki.

## **2.7. Adatfeldolgozás**

Minden PET-felvételt a BrainCad képelemző szoftverrel (verzió: 1.124) értékeltünk ki. A képrekonstrukciót követően a koronális képeken a tumorok és a főbb szövetek/szervek esetén gondosan meghatároztuk az érdeklődési területeket (ROI), és a ROI-kban lévő radioaktivitáskoncentrációkat, melyeket SUVmean és SUVmax értéként (g/ml) mutattunk be. A T/M SUVmean és T/M SUVmax értékeket a tumorok és a háttérben lévő izomszövet aktivitásából számítottuk.

A biodisztribúciós vizsgálatok esetén a szervek mért gammasugárzás értékeit rögzítettük, majd a bomláskorrigált radioaktivitáskoncentrációkat a beadott dózis százalékában fejeztük ki a szövet grammjára vetítve (% ID/g). Az adatokat átlag  $\pm$  standard eltérés (SD) formában adtuk meg.

A statisztikai elemzésekhez a MedCalc 18.5 (MedCalc Software, Mariakerke, Belgium) szoftvercsomagot használtuk, és minden statisztikai adatot átlag  $\pm$  SD-ben adtuk meg. A statisztikai szignifikancia értékelésére Mann-Whitney U-tesztet, a kétoldali t-tesztet és a kétirányú ANOVA-t alkalmaztuk, a 0,05-nél kisebb p-értéket statisztikailag szignifikánsnak tekintettük.

### 3. Eredmények és megbeszélés

#### 3.1. [<sup>52</sup>Mn]Mn-DOATAGA-RAMEB

Tekintettel a melanomával összefüggő magas mortalitásra, a tumorszelektív radioaktív PET képalkotó radiogyógyszerek segítségével történő korai betegségdiagnosztika a jelenlegi kutatások előterében áll. Megfelelő fizikai tulajdonságai és hosszú biológiai felezési ideje miatt az <sup>52</sup>Mn a közelmúltban nagyobb figyelmet kapott a nukleáris medicina területén, mint potenciális izotóp az onkológiai képalkotó PET-radiogyógyszerek kifejlesztéséhez. Az 5,56 napos felezési idejével az izotóp megkönnyíti a hosszabb farmakokinetikájú rendszerekkel történő munkát, hosszabb felvételi időt tesz lehetővé. A mai napig számos <sup>52</sup>Mn-jelzett PET-nyomjelzőt, köztük a [<sup>52</sup>Mn]Mn-PyC3A, [<sup>52</sup>Mn]Mn-DOTAGA-bevacizumab vagy [<sup>52</sup>Mn]Mn-BPPA-trastuzumab izotópot sikeresen alkalmaztak preklinikai vizsgálatokban. Ezért az új <sup>52</sup>Mn-jelzett RAMEB *in vivo* diagnosztikai képességét MC1-R pozitív melanoma modellekben vizsgáltuk, és összehasonlítottuk más, a melanoma PET-képalkotásban használt, jól bevált tumorspecifikus PET-radiogyógyszerekkel ([<sup>68</sup>Ga]Ga-DOTA-NAPamid és [<sup>68</sup>Ga]Ga-DOTAGA-RAMEB).

A korábbi irodalmi eredményekkel összehangban a mi MC1-R pozitív B16-F10 melanomákban jelentős [<sup>68</sup>Ga]Ga-DOTA-NAPamid felhalmozódást találtunk, amely megerősítette a vizsgált anyagunk receptorspecifikusságát és a radioaktív anyag magas diagnosztikus potenciálját MC1R pozitív melanoma képalkotásában. Korábbi PET/MRI-vizsgálatokban ugyanezekkel a preklinikai modellrendszerekkel a [<sup>68</sup>Ga]Ga-DOTA-NAPamid MC1-R-szelektivitást és kiemelkedő

tumorcélzó képességet mutatott. Ezenkívül a  $^{68}\text{Ga}$ -tól eltérő radionuklidok, köztük a réz-64/61, a fluor-18, a bizmut-213 vagy a szkandium-44 is hasonlóan felhasználhatók az MC1-R-affin NAPamid vegyületek radiojelzésére, valamint a melanoma kimutatására. Hasonlóképpen, a bizmut-213-mal jelölt alternatív alfa-MSH-analógok (HOLDamid, FOLDamid, MARSamid) ígéretes vektorjelölteknek számítanak a malignus melanoma kezelésében.

A NAPamid-származék mellett az *in vivo* eredmények rámutattak arra, hogy mind a  $^{68}\text{Ga}$ -, mind az  $^{52}\text{Mn}$ -jelzett ciklodextrin molekulákkal egyértelműen körülhatárolhatók a sc. növekvő tumorer, ami bizonyítja a vizsgált radiotracerok potenciális alkalmazhatóságát a rosszindulatú melanoma *in vivo* PET-képzésében. Továbbá, tekintettel a RAMEB PGE2-receptorokkal való komplexképzéshez, megfigyelésünk a vizsgált daganatok PGE2-pozitivitására is utalhat. Bár a B16-F10 tumorok teljes receptorprofilja még feltárássra vár, korábbi immunhisztokémiai eredmények erős PGE2-pozitivitásról számoltak be az ilyen tumortípusok esetében. Ezen túlmenően Kim és munkatársai B16-F10 sejtekkel kapcsolatos eredményei, amelyek szerint a timosaponin AIII alkalmazásával összefüggésben csökkent PGE2- és EP-receptor-szintet jeleztek, mely adatok szintén a PGE2 és receptorainak jelenlétére utalnak a melanoma tumorsejteken. Bár a vizsgált melanóma PGE2-expressziója összefüggést sugallhat a radioaktívan jelzett ciklodextrinek felhalmozódásával, további kutatásokra van szükség a radiotracer felvétel és a melanómasejtek receptor-expressziója közötti kapcsolat feltáráshoz.

A jelen eredményekkel összhangban Szabó és munkatársai szintén jelentős tumorfelvételt mutattak ki  $^{68}\text{Ga}$ -jelzett ciklodextrin-származékok ( $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-NODAGA-RAMEB}$  és  $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-NODAGA-HP}\beta\text{CD}$ ) esetében

egy kísérleti melanoma-modellen végzett proof-of-concept vizsgálatban. Az  $^{52}\text{Mn}$ -jelzett RAMEB és a  $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-NODAGA-RAMEB}$  hasonló felhalmozódása a B16-F10 tumorokban, amelyet 1 órával a radiofarmakonok i.v. beadása után mértek, azt jelzi, hogy a radionuklid típusa nem befolyásolja a ciklodextrinek tumor-célzó képességét ( $[^{52}\text{Mn}]\text{Mn-DOTAGA-RAMEB}$ :  $0,06\pm 0,01$  és  $0,09\pm 0,02$  az SUV<sub>mean</sub> és SUV<sub>max</sub>;  $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-NODAGA-RAMEB}$  SUV<sub>mean</sub>:  $0,06\pm 0,02$  és SUV<sub>max</sub>:  $0,10\pm 0,03$ ).

Mindazonáltal a  $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-DOTAGA-RAMEB}$  felvételeknél szignifikánsan magasabb tumorfelvételt regisztráltunk (SUV<sub>mean</sub>:  $0,16\pm 0,04$ ; SUV<sub>max</sub>:  $0,24\pm 0,05$ ) a NODAGA-kelátorral kapcsolt radiotracer vizsgálata során készített PET-felvételekhez képest ( $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-NODAGA-RAMEB}$  SUV<sub>mean</sub>:  $0,06\pm 0,02$ ; SUV<sub>max</sub>:  $0,10\pm 0,03$ ); ami valószínűleg a szerkezeti eltéréseknek vagy az alkalmazott kelátorok (NODAGA vs. DOTAGA) eltérő stabilitásának tulajdonítható. Az SUV-értékek közötti különbségek ellenére arra következtethetünk, hogy a linker cseréje (NODAGA a DOTAGA-ra) nincs érdemi hatással a ciklodextrin alapú nyomjelzők tumorcélzására.

Feltételezzük, hogy a későbbi felvételi időpontokban tapasztalt szignifikánsan alacsonyabb  $[^{52}\text{Mn}]\text{Mn-DOATAGA-RAMEB}$  felhalmozódás a tumorsejtek felszíni receptorainak a tumor növekedése és fejlődése során bekövetkező időbeli változásával függhet össze ( $0,02\pm 0,01$  és  $0,03\pm 0,01$  SUV<sub>mean</sub> és SUV<sub>max</sub> 4 óra, illetve  $0,01\pm 0,01$  és  $0,01\pm 0,01$  és SUV<sub>max</sub>, 3 nap). A PGE2/EP2-expresszió változásai, a tumor környezetében kialakuló hipoxia és a krónikus gyulladás magyarázhatja az  $^{52}\text{Mn}$ -jezett vegyületek felvételi kinetikáját.

Mindezek alapján megállapíthatjuk, hogy az  $^{52}\text{Mn}$ -ciklodextrinnel végzett képalkotás képes ábrázolni az EP-receptorok számában és a PGE2-koncentrációban a tumor mikro környezetében bekövetkező változásokat. A tumorról kapcsolatos biomarkerek (receptorok, oldható molekulák) alaposabb vizsgálata hosszú távon új célpontok feltárásához vezethet mind a diagnosztikai, mind a terápiás alkalmazások számára. Ezen kívül a hipoxia és a nekrozis, különösen a központi régiókban, felelős lehet a  $^{52}\text{Mn}$ ]Mn-DOATAGA-RAMEB heterogén eloszlásáért. Még ha a  $^{52}\text{Mn}$ ]Mn-DOTAGA-RAMEB aktivitása minden vizsgált időpontban jelentősen csökkent is a  $^{68}\text{Ga}$ -jelzett megfelelőjéhez képest, az  $^{52}\text{Mn}$ -jelölésnek lehetnek bizonyos előnyei a  $^{68}\text{Ga}$ -cal szemben. A hosszabb detektálási időt lehetővé tevő, hosszú élettartamú  $^{52}\text{Mn}$  lehetővé teheti a tumorról kapcsolatos lassabb patofiziológiai folyamatok vizsgálatát, valamint a korai időpontban készült felvételeken esetleg nem látható elváltozások jobb azonosítását. Mivel az  $^{52}\text{Mn}$ ]Mn-DOTAGA-RAMEB gyors eliminációs kinetikája és kiemelkedő vesefelvétele kizárhatja a nyomjelző ilyen célokra való felhasználását, farmakokinetikájának javítása - például albuminkötő rész beépítésével - segíthet meghosszabbítani biológiai élettartamát és ezáltal tumorban való hosszabb idejű felhalmozódását. Ezen kívül az  $^{52}\text{Mn}$ ]Mn-DOTAGA-RAMEB ígéretes az MC1 R-t nem kifejező melanómás daganatok PET-alapú vizualizációjában.

Amint korábban említettük, a  $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-DOTAGA-RAMEB és az  $^{52}\text{Mn}$ ]Mn-DOTAGA-RAMEB nyomjelző felvételének mértéke között megfigyelt eltérések részben a PGE2-koncentráció változásának és a PGE2-receptorok jelenlétének is tulajdoníthatóak a tumor mikro környezetében. Megjegyzendő, hogy a két molekula PGE2-kötési

affinitása közötti különbségekkel is foglalkozni kell. Annak ellenére, hogy mind az MC1-R célzott NAPamid, mind a PGE2-szelektív ciklodextrinek alkalmazhatóak lehetnek a melanoma képződésére, a felvételi értékek alapján a NAPamid molekula jobbnak tűnik. A melanomás daganatokban az EP2-hez képest erősebb MC1-R jelenlét magyarázhatja a [<sup>68</sup>Ga]Ga-DOTA-NAPamid fokozott aktivitását. Emellett a NAPamid-alapú nyomjelző hosszabb tumorretenciója hozzájárulhat az alfa-MSH analóg jelentősebb felvételéhez.

Az *in vivo* PET-eredményekkel összhangban az [<sup>52</sup>Mn]Mn-DOTAGA-RAMEB gyors veseürülését az injekció beadása után 30 perccel vérben detektált alacsony aktivitás, a jelentős vesefelvétel és a hólyagban lévő jelentős radioaktivitás bizonyítja. A mi eredményeinkhez hasonlóan a [<sup>205/206</sup>Bi]Bi-DOTAGA-RAMEB, a [<sup>68</sup>Ga]Ga-DOTAGA-RAMEB és a [<sup>68</sup>Ga]Ga-NODAGA-HPβCD biodisztribúciós adatai is a vizelettel történő eliminációt mutatták. A viszonylag magas hepatikus felvétel alapján feltételezzük a gasztrointesztinális rendszer lehetséges szerepét a nyomjelző kiválasztásában is, azonban a jövőbeni vizsgálatok szükségesek ahhoz, hogy erre a megfigyelésre meggyőző magyarázatot adjunk. A [<sup>68</sup>Ga]Ga-NODAGA-HPβCD (0,99±0,13 %ID/g) korábbi adatainak megfelelően viszonylag magas visszatartást találtunk a tüdőben a korai időpontokban (1,22±0,41 %ID/g). Bár a pontos okot még nem sikerült teljesen feltárni, Hajdu és munkatársai hipotézise alapján a [<sup>52</sup>Mn]Mn-DOTAGA-RAMEB hosszan tartó felhalmozódása a vízzel telt tüdőterületeken akadályozhatja a nyomjelző visszatérését a szisztémás keringésbe, ami a felvételi értékek növekedéséhez vezet. Összhangban a többi radioaktívan jelölt RAMEB-molekulával ([<sup>68</sup>Ga]Ga-DOTAGA-RAMEB és [<sup>205/206</sup>Bi]Bi-DOTAGA-RAMEB) kapott eredményekkel, a

többi vizsgált szerv/szövet viszonylag alacsony nyomjelzőanyag-akkumulációt mutatott.

Az *in vivo* PET-adatokkal összhangban az [<sup>52</sup>Mn]Mn-DOTAGA-RAMEB emelkedett tumorfelvétele tovább igazolta a farmakon tumorcélzó képességét, valamint a PGE2- és EP-receptorok lehetséges jelenlétét a tumor mikro környezetében. A B16-F10 tumorok *ex vivo* biodisztribúcióját értékelve Szabó és munkatársai szintén jelentős felhalmozódást detektáltak a [<sup>68</sup>Ga]Ga-NODAGA-HPβCD és a [<sup>68</sup>Ga]Ga-NODAGA-RAMEB esetében, ami hasonló volt a mi eredményeinkhez. Mindazonáltal a kísérletükben tapasztalt (0,82±0,09 %ID/g) jelentősen alacsonyabb RAMEB-retenció (0,32±0,10 %ID/g) feltehetően annak tulajdonítható, hogy az *ex vivo* felvételi méréseket különböző időpontokban végezték. Míg mi 60 perces *ex vivo* adatokat értékeltünk, addig Szabó és munkatársai 90 perccel a radiotracer iv. beadása után detektálták eredményeiket, és feltételezzük, hogy a 60 és 90 perc közötti jelentős nyomjelző kimosódás magyarázhatja a nyomjelző koncentrációk között megfigyelt különbségeket. A [<sup>52</sup>Mn]Mn-DOTAGA-RAMEB magas tumorfelhalmozódása, elhanyagolható háttéraktivitás mellett (a vesék és a máj kivételével) optimális tumor-háttér arányt eredményezett, ami a kép kiértékelése szempontjából döntő jelentőségű. Mindazonáltal a vese- vagy máj malignitások azonosítását akadályozhatja a megfelelő szervek fiziológiásan magas felvétele. Összességében az *ex vivo* adatok is megerősítették az <sup>52</sup>Mn-jelzett RAMEB tumorspecifikusságát a melanoma képképzésében. Bár úttörő eredményeink biztatóak lehetnek, a farmakokinetikai optimalizálásra összpontosító vizsgálatokra van szükség.

A fentieket figyelembe véve kimutattuk a <sup>52</sup>Mn-vel jelölt, újonnan szintetizált ciklodextrin PET képképző molekula diagnosztikai

alkalmazásának megvalósíthatóságát kísérleti melanoma tumorok felhasználásával. Mivel a  $^{68}\text{Ga}$ - és az  $^{52}\text{Mn}$ -jelölt ciklodextrin PET nyomjelzők ígéretes radiotracerek a melanoma kimutatására, további, más radionuklidokkal jelölt ciklodextrin alapú radiojelzett vegyületeket kell létrehozni és értékelni.

### 3.2. [ $^{61}\text{Cu}$ ]Cu-KFTG-NAPamid biológiai viselkedésének értékelése

[ $^{61}\text{Cu}$ ]Cu-KFTG-NAPamiddal (az első  $^{61}\text{Cu}$  alapú radiofarmakon ezen az alkalmazási területen) végzett kísérleteink alapján, megállapítható, hogy ez a radiofarmakon kiváló képességekkel rendelkezik a rosszindulatú melanom tumorok nem-invazív PET diagnosztikájában. Az alap komplex ([Cu(KFTG)]<sup>+</sup>) gyors képződése, nagy inertsége és mérsékelt SOD-aktivita már önmagában is előrevetítette annak alkalmazhatóságát *in vivo* körülmények között, amit csak javított a NAPamid ismert affinitása a melanoma tumorokhoz.

A biológiai vizsgálatok előtt, annak érdekében, hogy információt szerezzünk a [ $^{61}\text{Cu}$ ]Cu-KFTG-NAPamid plazma-stabilitásáról, a hatóanyag dekelációját vizsgálták humán plazmában. A vizsgálat 6 óras időtartama alatt kevesebb, mint 4 %-os aktivitásvesztést tudtunk detektálni, ami figyelembe véve a kapott diagnosztikai eredményeket kiválónak mondható.

Az *in vivo* és *ex vivo* eredményekből arra lehet következtetni, hogy a [ $^{61}\text{Cu}$ ]Cu-KFTG-NAPamid radiotracer az MC1-R pozitív kísérleti melanomás daganatokhoz nagy affinitással kötődik, amit az SUV és a %ID/gértékek is alátámasztanak.

Emellett a háttérből való gyors elimináció és a vesén keresztüli kiválasztás révén a [<sup>61</sup>Cu]Cu-KFTG-NAPamid kiváló képkontrasztot biztosít, ami jelentősen megkönnyíti a PET képek kiértékelését, így az MC1-R pozitív tumorok azonosítását is.

### **3.3. [<sup>213</sup>Bi]Bi-DOTA-konjugált amidszármazékok vizsgálati eredményeinek értékelése**

A korábbi kutatási eredmények egyértelműen alátámasztották a radioaktívan jelzett  $\alpha$ -MSH analógok nagyobb arányú *in vivo* felvételét B16-F10 melanómában az A375 tumorokhoz képest, amelyek alacsony MC1-R expresszióval jellemezhetőek. Tafreshi és munkatársai az MC1-R receptort expresszáló MM-szelektív optikai diagnosztikumokat fejlesztettek ki fluoreszcens MC1-R-affin peptidomimetikus ligandum, az MC1RL-800 előállításával. A *in vivo* tumorspecifikusságának felmérésére i.v. beadását követően A375 és A375/MC1R tumoros egerekbe, fluoreszcens képalkotást végeztek. A receptor-pozitív tumorok szignifikánsan megnövekedett felvételi értékei alapján az alacsony számú receptort hordozó tumor felvételi értékéhez képest ( $p < 0,05$ ), Tafreshi és munkatársai bizonyították MC1-R-nek a diagnosztikai célpont értékét.

A Nagy és munkatársai által végzett vizsgálatban az MC1-R specifikus, <sup>44</sup>Sc-gyel és <sup>68</sup>Ga-cal jelölt DOTA-konjugált NAPamid kötődési potenciálját *in vitro* és *in vivo* is igazolták, MC1-R pozitív A375 melanoma sejtvonalakban, valamint B16-F10 tumoros C57BL/6 J egerek és A375 tumort hordozó CB17 SCID egerekben. Az *in vitro* eredmények alapján – igazolták az MC1-R overexpressziót - mind a <sup>68</sup>Ga-, mind a <sup>44</sup>Sc-jelzett

NAPamid felvételét a B16-F10 sejtekben, ami meghaladta az A375 sejtekét ( $p < 0,01$ ).

Vizsgálataik részeként a [ $^{44}\text{Sc}$ ]Sc-DOTA-NAPamid megemelkedett felvételét [ $^{44}\text{Sc}$ ]Sc-DOTA-NAPamid és a [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-DOTA-NAPamid s.c. fejlődő MC1-receptor pozitív B16-F10 tumorok kiemelkedő PET-képkontrasztot biztosítottak. A transzlációs adatok azonban megnövekedett tumor standardizált felvételi értékeket és T/M arányt mutattak a [ $^{44}\text{Sc}$ ]Sc-DOTA-jelzett származék alkalmazása esetén, ami megerősítette annak alkalmazhatóságát melanoma kimutatására. Az *in vivo* és *ex vivo* eredményekkel összhangban, az összes vizsgált anyag fokozott renális felhalmozódása a mi vizsgálatunkban is megfigyelhető volt. Hasonló módon a korábbi  $^{44}\text{Sc}$  és a  $^{68}\text{Ga}$ DOTA-NAPamiddal végzett kísérletek csekély radioaktivitásról számoltak be a mellkasban és szinte valamennyi hasi szervben. Azonban emelkedett  $^{213}\text{Bi}$ -HOLDamid-felhalmozódást regisztráltunk a belekben, a gyomorban és a májban, ami megfelelt a korábbi  $^{18}\text{F}$ -kötésű NAPamid-származékokkal végzett vizsgálatok eredményeivel.

Bár a jelen kísérletsorozatban nem vizsgáltuk az idő vagy a peptidok mennyiségének hatását a biodisztribúcióra, a jelenlegi szakirodalmi adatok alapján néhány szempontot érdemes megemlíteni. A peptidok szerkezete, illetve hossza esetleg befolyásolhatja a vizsgált peptidok *ex vivo* nyomjelzőanyag-felvételi profilját. Például egy peptid rövidebb szekvenciájú megfelelője fokozott eliminációval ürülhet a célszervekből és -szövetekből. Ez a gyors kiürülés alacsony háttéraktiváshoz és így magasabb tumor-háttér arányhoz vezethet, amely nagyban megkönnyíti a PET felvételek vizuális értékelhetőségét. Továbbá, a rövidebb molekulák

csak azt az aminosav-motívumot tartalmazhatják, amely a receptorhoz való kötődésért és a tumorcélzásért felelős, mivel a nem specifikus peptidszegmensek hiánya valószínűleg csökkentheti a nem specifikus kötődést. Ezen kívül, a más időpontokban elvégzett *ex vivo* mérések további információt szolgáltatnának az érintett nyomjelzők farmakokinetikájáról. Ezért a vizsgált radiokomplexek felvételi kinetikájának jobb megértése érdekében, több, a kémiai szerkezetre is összpontosító, vagyis kiterjedtebb vizsgálatokat kell végezni. Eredményeink alapján megfigyeltük, hogy a B16-F10 MM-ák minden vizsgált radiotracerrel egyértelműen azonosíthatóak voltak. A vizsgált anyagok specifikus tumorfelhalmozódása  $^{213}\text{Bi}$ -jelölt amidszármazékok esetén azt jelzi, hogy ezek a vegyületek nagy affinitást mutatnak az MC1-R-t expresszáló melanomához. Ezért ezek az újonnan szintetizált tumor-célzó radiotracerok kiválóak MC1-R pozitív malignus daganatok *in vivo* diagnosztikájában. A  $^{213}\text{Bi}$ -jelölt alfa-sugárzó molekulák alkalmasak lehetnek a MM célzott radionuklid-kezelésében. Az alfa-emissziós, receptor-irányított amidszármazékok integrálása a standard humán protokollokba, hozzájárulhatna a személyre szabott MM-kezeléshez.

### **3.4. Mellkasi B16-F10 melanoma metasztázisok vizsgálata**

Megvizsgáltuk a PGE2 specifikus [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-DOTAGA-RAMEB és [ $^{52}\text{Mn}$ ]Mn-DOTAGA-RAMEB; illetve a melanokortin-1-receptor (MC1-R) specifikus [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-DOTA-NAPamid és [ $^{61}\text{Cu}$ ]Cu-KFTG-NAPamid targetáló képességét mellkasi melanoma metasztázisokat hordozó egerekben.

Eredményeink azt mutatták - a vártak megfelelően -, hogy a primer tumorokhoz hasonlóan a metasztázisokban is jelentős dúsulást mutatnak az általunk vizsgált radiofarmakonok. Egyértelműen megállapítható volt, hogy a B16-F10 melanoma sejtek ismertén magas MC1-R expressziójának megfelelően a [<sup>68</sup>Ga]Ga-DOTA-NAPamid és [<sup>61</sup>Cu]Cu-KFTG-NAPamid mutatott kiemelkedően magasabb aktivitást, mint a radiojelzett RAMEB ciklodextrinek. Ezt a magas receptor expressziót igazolták Cheng és munkatársai által már 2007-ben publikált *in vitro* sejtes és *in vivo* vizsgálatok is, amelyekben radionukliddal jelzett  $\alpha$ -MSH analógok nagyfokú dúsulását mutatták a B16-F10 tumorokban. Feltételezéseink szerint a RAMEB által targetált PGE2 molekulák és receptorai a metasztázisokban – akárcsak a primer tumorokban – bár jelen vannak, és autokrin módon termelődnek és hatnak, azonban az MC1-R receptor expressziójához képest kisebb mennyiségben találhatóak meg a tumorban. Ezzel magyarázható, hogy az alacsonyabb [<sup>68</sup>Ga]Ga-DOTAGA-RAMEB és [<sup>52</sup>Mn]Mn-DOTAGA-RAMEB akkumuláció. Továbbá véleményünk szerint, mivel a PGE2 szintézisében szerepet játszó enzimek mennyisége a tumor növekedésével változik, és a PGE2 receptorok expresszióját befolyásolják intratumorális gyulladások, a hipoxia és az angiogenezissel összefüggő folyamatok, így feltételezhető az is, hogy igen jelentős különbségeket mérhetünk a RAMEB-alapú radiofarmakon akkumulációt tekintve egy azonos kísérleti állat azonos tumora esetén két egymást követő napon. Mindezek mellett megállapítható, hogy a PGE2 specifikus [<sup>68</sup>Ga]Ga-DOTAGA-RAMEB és [<sup>52</sup>Mn]Mn-DOTAGA-RAMEB; illetve az MC1-R specifikus [<sup>68</sup>Ga]Ga-DOTA-NAPamid és [<sup>61</sup>Cu]Cu-KFTG-NAPamid radiofarmakonok alkalmasak a B16-F10 mellkasi metasztázisok kimutatására.

#### 4. Az értekezés új tudományos eredményei

- Sikeresen előállítottunk két a melanoma malignum diagnosztikájában alkalmazható radiformakont ( $[^{52}\text{Mn}]\text{Mn-DOATAGA-RAMEB}$ ,  $[^{61}\text{Cu}]\text{Cu-KFTG-NAPamid}$ ), valamint a terápás célra alkalmazható  $^{213}\text{Bi}$ -mal jelölt DOTA-NAPamid, HOLDamid, FOLDamid és MARSamid származékokat.
- Az előállított radiogyógyszerek mindegyikénél bizonyítottuk, hogy azok nagy affinitással kötődnek a melanoma tumorokhoz.
- Bebizonyítottuk, hogy a  $([^{52}\text{Mn}]\text{Mn-DOATAGA-RAMEB}$  radiofarmakon sikeresen alkalmazható a kísérleti melanoma tumorok diagnosztikájában.
- Igazoltuk, hogy az általunk szintetizált  $[^{61}\text{Cu}]\text{Cu-KFTG-NAPamid}$  kiváló képkontrasztot biztosít, ami jelentősen megkönnyíti a PET képek kiértékelését, így az MC1-R pozitív tumorok azonosítását is, köszönhetően a háttérből történő gyors kiürülésének, valamint a vesén keresztüli kiválasztásának.
- A  $^{213}\text{Bi}$ -DOTA-NAPamid, HOLDamid, FOLDamid és MARSamid radiofarmakon vizsgálatának eredményeivel igazoltuk, hogy azok mindegyike képes a MM tumorok azonosítására. Azt találtuk, hogy a négy vizsgált származék közül a  $[^{213}\text{Bi}]\text{Bi-DOTA-NAPamid}$  rendelkezik a legjobb tulajdonságokkal.
- Az elvégzett kísérletek eredményei alapján megállapítottuk, hogy a  $^{213}\text{Bi}$ -jelölt alfa-sugárzó molekulák alkalmasak lehetnek a MM célzott radionuklid-kezelésében, ami hozzájárulhatna a személyre szabott terápiához a humán diagnosztikában.
- A PGE2 specifikus  $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-DOTAGA-RAMEB}$  és  $[^{52}\text{Mn}]\text{Mn-DOTAGA-RAMEB}$ , valamint az MC1-R specifikus  $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-$

DOTA-NAPamid és [<sup>61</sup>Cu]Cu-KFTG-NAPamid összehasonlító vizsgálatának eredményeiből, amelyet mellkasi melanoma metasztázisokat hordozó egereken végeztünk, megállapítottuk, hogy a metasztázisokban is jelentős dúsulást mutatnak a vizsgált radiofarmakonok. Továbbá, azt is kijelenthetjük, hogy a [<sup>68</sup>Ga]Ga-DOTA-NAPamid és [<sup>61</sup>Cu]Cu-KFTG-NAPamid radiotrészerek jelentősen magasabb aktivitást mutattak, mint a radiojelzett RAMEB ciklodextrinek.

## 5. Összefoglalás

Doktori munkám során célul tűztük ki, hogy olyan a gyakorlatban is alkalmazható radiotrészereket fejlesztünk, amelyek alkalmasak a melanoma malignum PET diagnosztikájára, így előállítottunk és tanulmányoztunk számos  $^{52}\text{Mn}$ ,  $^{61}\text{Cu}$  és  $^{213}\text{Bi}$  izotóppal jelölt DOTAGA ( $^{52}\text{Mn}$ ), DOTA ( $^{213}\text{Bi}$ ) és 15aneN<sub>5</sub>-alapú ( $^{61}\text{Cu}$ ) radiofarmakont, amelyeket a tumorspecifikusság eléréséhez  $^{52}\text{Mn}$  esetében RAMEB,  $^{61}\text{Cu}$  esetében NAPamid, míg a  $^{213}\text{Bi}$  esetében NAP-, FOLD-, HOLD- és MARSamid molekulákkal konjugáltunk. Az előállított radiofarmakonok diagnosztikai potenciálját ezután B16-F10 melanoma tumoros egérmodellen vizsgáltuk, majd a kapott eredményeket összehasonlítottuk az irodalomból már ismert radiofarmakonok megfelelő eredményeivel. Vizsgálatainkhoz tíz hetes nőstény C57BL/6J egereket használtunk, amelyekben a bal váll területén hoztuk létre az MC1-R pozitív és PGE2-R pozitív tumorokat a tumorsejtek szubkután injektálásával, míg a metasztázis modell esetén intravénásan a laterális farki vénába juttattuk be a tumorsejteket. Az *in vivo* méréseket a tanszék MiniPET-II szkennereivel hajtottuk végre, míg az *ex vivo* vizsgálatokhoz egy kalibrált PerkinElmer gammaszámlálót alkalmaztunk.

A kísérleteink során kapott eredmények azt mutatták, hogy a [ $^{52}\text{Mn}$ ]Mn-DOTAGA-RAMEB potenciális radiofarmakon alkalmas a rosszindulatú melanoma tumorok PET diagnosztikájára. Ugyanakkor az ágens gyors eliminációs kinetikája és vesefelvétele kizárhatja hosszabb folyamatok vizsgálatára történő alkalmazását.

A  $^{61}\text{[Cu]Cu}$ -KFTG-NAPamid farmakonnal végzett vizsgálataink eredményéből kiderült, hogy az ágens nagy affinitással kötődik az MC1-R

pozitív kísérleti melanomás daganatokhoz és kiváló képkontrasztot biztosít, ami megkönnyíti a PET képek kiértékelését.

A  $^{213}\text{Bi}$ -vel jelölt, DOTA-konjugált, MC1-R-affinitású  $\alpha$ -MSH-analógok vizsgálata azt mutatta, hogy mind a négy radiotrészter specifikus kötődést mutat az MC1-R B16-F10 tumorokhoz. A legmagasabb felvételi értékeket a NAP- és a FOLDamid származékok esetében mértük, így ezek akár jelentős szerepet is játszhatnak az MM tumorok PET képalkotásában.

Végezetül, a PGE2 specifikus [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga- és [ $^{52}\text{Mn}$ ]Mn-DOTAGA-RAMEB, valamint a MC1-R specifikus [ $^{68}\text{Ga}$ ]Ga-DOTA-NAPamid és [ $^{61}\text{Cu}$ ]Cu-KFTG-NAPamid ágensekkel elvégzett vizsgálataink, amelyek mellkasi B16-F10 melanoma metasztázisok azonosítására irányultak, azt mutatták, hogy mind a négy anyag kifejezett dúsulást mutatott, míg az a kontroll állatokban nem volt megfigyelhető. A NAPamid származékok esetén magasabb halmozódást tudtunk detektálni, melyek az sc tumor vizsgálat eredményeivel korrelálnak.

## 6. Közlemények listája



DEBRECENI  
EGYETEM

DEBRECENI EGYETEM  
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR  
H-4002 Debrecen, Egyetem tér 1, Pf.: 400  
Tel.: 52/410-443, e-mail: publikaciok@lib.unideb.hu

Nyilvántartási szám: DEENK/151/2025.PL  
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Kálmán-Szabó Ibolya

Doktori Iskola: Petrányi Gyula Klinikai Immunológiai és Allergológiai Doktori Iskola

### A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. Képes, Z., Péli-Szabó, J., Kálmán-Szabó, I., Sass, T., Esze, R., Opposits, G., Jósai, I., Szikra, D. P., Fenyvesi, F., Hajdu, I., Trencsényi, G.: <sup>52</sup>Mn-labelled Beta-cyclodextrin for Melanoma Imaging: a Proof-of-concept Preclinical Study.  
*In Vivo*. 38 (6), 2591-2600, 2024.  
DOI: <http://doi.org/10.21873/invivo.13735>  
IF: 1.8 (2023)
2. Kálmán-Szabó, I., Bunda, S., Lihí, N., Szaniszló, Z., Szikra, D. P., Péli-Szabó, J., Fekete, A., Gyuricza, B., Szűcs, D., Papp, G., Trencsényi, G., Kálmán, F. K.: <sup>61</sup>Cu-Labelled radiodiagnostics of melanoma with NAPamide-targeted radiopharmaceutical.  
*Int. J. Pharm.* 632, 1-9, 2023.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2022.122527>  
IF: 5.3
3. Kálmán-Szabó, I., Képes, Z., Fekete, A., Vágner, A., Nagy, G., Szűcs, D., Gyuricza, B., Arató, V. Z., Varga, J., Kárpáti, L., Garai, I., Mándity, I. M., Bruchertseifer, F., Elek, J., Szikra, D. P., Trencsényi, G.: In Vivo evaluation of newly synthesized <sup>213</sup>Bi-conjugated alpha-melanocyte stimulating hormone ( $\alpha$ -MSH) peptide analogues in melanocortin-1 receptor (MC1-R) positive experimental melanoma model.  
*J. Pharm. Biomed. Anal.* 229, 1-9, 2023.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpba.2023.115374>  
IF: 3.1

### További közlemények

4. Bunda, S., Kálmán-Szabó, I., Lihí, N., Képes, Z., Szikra, D. P., Péli-Szabó, J., Timári, I., Szűcs, D., May, N. V., Papp, G., Trencsényi, G., Kálmán, F. K.: Diagnosis of Melanoma with <sup>61</sup>Cu-Labelled PET Tracer.  
*J. Med. Chem.* 67 (11), 9342-9354, 2024.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/acs.jmedchem.4c00479>  
IF: 6.8 (2023)





5. Péli-Szabó, J., Csige, K., Kálmán-Szabó, I., Arató, V. Z., Opposits, G., Jószi, I., Kertész, I., Képes, Z., Méhes, G., Fenyvesi, F., Hajdu, I., Trencsényi, G.: In vivo assessment of tumor targeting potential of 68Ga-labelled randomly methylated beta-cyclodextrin (RAMEB) and 2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin (HP $\beta$ CD) using positron emission tomography.  
*Int. J. Pharm.* 630, 1-8, 2023.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2022.122462>  
IF: 5.3
6. Csikos, C., Vágner, A., Nagy, G., Kálmán-Szabó, I., Péli-Szabó, J., Ngo, M. T., Szoboszlai, Z., Szikra, D. P., Krasznai, Z. T., Trencsényi, G., Garai, I.: In Vivo Preclinical Assessment of the VEGF Targeting Potential of the Newly Synthesized [52Mn]Mn-DOTAGA-Bevacizumab Using Experimental Cervix Carcinoma Mouse Model.  
*Diagnostics*. 13 (2), 236-, 2023.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/diagnostics13020236>  
IF: 3
7. Boda, R., Lázár, I., Keczánné Üveges, A., Bakó, J., Tóth, F., Trencsényi, G., Kálmán-Szabó, I., Béres, M., Sajtos, Z., D. Tóth, E., Deák, Á., Tóth, A., Horváth, D., Gaál, B. Á., Daróczy, L., Dezső, B., Ducza, L., Hegedűs, C.:  $\beta$ -Tricalcium Phosphate-Modified Aerogel Containing PVA/Chitosan Hybrid Nanospun Scaffolds for Bone Regeneration.  
*Int. J. Mol. Sci.* 24 (8), 1-23, 2023.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms24087562>  
IF: 4.9
8. Képes, Z., Barkóczy, A., Péli-Szabó, J., Kálmán-Szabó, I., Arató, V. Z., Garai, I., Árkosy, P., Jószi, I., Deák, Á., Kertész, I., Hajdu, I., Trencsényi, G.: In Vivo Assessments of Mesoblastic Nephroma (Ne/De) and Myelomonoblastic Leukaemia (My1/De) Tumour Development in Hypercholesterolemia Rat Models.  
*Int. J. Mol. Sci.* 23 (21), 1-16, 2022.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms232113060>  
IF: 5.6
9. Csige, K., Péli-Szabó, J., Kálmán-Szabó, I., Dénes, N., Szikra, D. P., Képes, Z., Opposits, G., Méhes, G., Kertész, I., Fenyvesi, F., Trencsényi, G., Hajdu, I.: In vivo investigation of Gallium-68 and Bismuth-205/206 labeled beta cyclodextrin for targeted alpha therapy of prostaglandin E2 receptor-expressing tumors in mice.  
*Int. J. Pharm.* 625, 1-10, 2022.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2022.122132>  
IF: 5.8





10. Képes, Z., Barkóczy, A., Péli-Szabó, J., Kálmán-Szabó, I., Arató, V. Z., Józai, I., Deák, Á., Kertész, I., Hajdu, I., Trencsényi, G.: In Vivo Preclinical Assessment of  $\beta$ -Amyloid-Affine [11C]C-PIB Accumulation in Aluminium-Induced Alzheimer's Disease-Resembling Hypercholesterinaemic Rat Model.  
*Int. J. Mol. Sci.* 23, 1-14, 2022.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms232213950>  
IF: 5.6
11. Kordován, M. Á., Hegedűs, C., Czifrák, K., Lakatos, C., Kálmán-Szabó, I., Daróczi, L., Zsuga, M., Kéki, S.: Novel Polyurethane Scaffolds Containing Sucrose Crosslinker for Dental Application.  
*Int. J. Mol. Sci.* 23 (14), 1-18, 2022.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms23147904>  
IF: 5.6
12. Kálmán-Szabó, I., Péli-Szabó, J., Arató, V. Z., Kertész, I., Képes, Z., Fekete, A., Szikra, D. P., Hajdu, I., Trencsényi, G.: PET Probes for Preclinical Imaging of GRPR-Positive Prostate Cancer: comparative Preclinical Study of [68Ga]Ga-NODAGA-AMBA and [44Sc]Sc-NODAGA-AMBA.  
*Int. J. Mol. Sci.* 23 (17), 1-17, 2022.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms231710061>  
IF: 5.6
13. Geninatti-Crich, S., Alberti, D., Kálmán-Szabó, I., Aime, S., Djanashvili, K.: MRI Visualization of Melanoma Cells by Targeting Overexpressed Sialic Acid with a GdIII-dota-en-pba Imaging Reporter.  
*Angew. Chem.-Int. Edit.* 52 (4), 1161-1164, 2013.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/anie.201207131>  
IF: 11.336
14. Geninatti-Crich, S., Cutrin, J. C., Lanzardo, S., Conti, L., Kálmán, F. K., Kálmán-Szabó, I., Lago, N. R., Iolascon, A., Aime, S.: Mn-loaded apoferritin: a highly sensitive MRI imaging probe for the detection and characterization of hepatocarcinoma lesions in a transgenic mouse model.  
*Contrast. Media Mol. Imaging.* 7 (3), 281-288, 2012.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/cmml.492>  
IF: 2.872
15. Kálmán-Szabó, I., Crich, S. G., Alberti, D., Kálmán, F. K., Aime, S.: Mn loaded apoferritin as an MRI sensor of melanin formation in melanoma cells.  
*Chem. Commun.* 48 (18), 2436-2438, 2012.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1039/c2cc17801j>  
IF: 6.378





16. Geninatti-Crich, S., Alberti, D., Kálmán-Szabó, I., Deagostino, A., Toppino, A., Barge, A., Ballarini, F., Bortolussi, S., Bruschi, P., Protti, N., Stella, S., Altieri, S., Venturello, P., Aime, S.: MRI-Guided Neutron Capture Therapy by Use of a Dual Gadolinium/Boron Agent Targeted at Tumour Cells through Upregulated Low-Density Lipoprotein Transporters. *Chem.-Eur. J.* 17 (30), 8479-8486, 2011.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/chem.201003741>  
IF: 5.925
17. Geninatti-Crich, S., Kálmán-Szabó, I., Alberti, D., Longo, D., Aime, S.: MRI of cells and mice at 1 and 7T Tesla with Gd-targeting agents: when the low field is better! *Contrast Media Mol. Imaging.* 6 (6), 421-425, 2011.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/cmml.436>  
IF: 3.328
18. Crivello, A., Nervi, C., Gobetto, R., Geninatti-Crich, S., Kálmán-Szabó, I., Barge, A., Toppino, A., Deagostino, A., Venturello, P., Aime, S.: Towards improved boron neutron capture therapy agents: evaluation of in vitro cellular uptake of a glutamine-functionalized carborane. *J. Biol. Inorg. Chem.* 14 (6), 883-890, 2009.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00775-009-0500-1>  
IF: 3.415
19. Stefania, R., Tei, L., Barge, A., Geninatti-Crich, S., Kálmán-Szabó, I., Cabella, C., Cravotto, G., Aime, S.: Tuning Glutamine Binding Modes in Gd-DOTA-Based Probes for an Improved MRI Visualization of Tumor Cells. *Chem. Eur. J.* 15, 76-85, 2009.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/chem.200801567>  
IF: 5.382

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 97,036

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre):  
10,2

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

Debrecen, 2025.04.14.

