

EGYETEMI DOKTORI (Ph.D.) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

**FLUOR-18 JELZETT ADENOZIN-RECEPTOR
LIGANDOK SZINTÉZISE**

LEHEL SZABOLCS



**DEBRECENI EGYETEM
ORVOS- ÉS EGÉSZSÉGTUDOMÁNYI CENTRUM
POZITRION EMISSZIÓS TOMOGRÁF CENTRUM
Debrecen, 2002**

BEVEZETÉS

Az adenzinnak sokfajta fiziológiai folyamatban megfigyelt hatásainak legnagyobb része sejtfelszíni receptorokkal való kölcsönhatásnak tulajdonítható. Az ún. *adenozin-receptorok* a szervezet számos szövetében találhatóak, és sokfajta komplex szabályozási rendszerben, gyulladáshos és immunológiai folyamatokban, szív- és érrendszeri történéshokban, valamint a fájdalom érzet kialakulásában van szerepük. Az adenzin különböző fiziológiai folyamatokban játszott különleges szerepének mélyebb megismerésében az adenzin-receptor ligandoknak fontos szerepük lehet.

A pozitronemissziós tomográfia az alapvető biológiai- és fiziológiai folyamatok nem-invazív vizsgálatának fontos módszerévé vált. Segítségével azok a biológiai struktúrák is tanulmányozhatók, amelyek piko- vagy femtomoláris koncentrációtartományban léteznek.

Az adenzin-receptorok PET-technikával történő feltérképezéséhez olyan szelektív ligandokra van szükség, amelyeket pozitronemittáló izotóppal jelöltünk, és kellően nagy fajlagos aktivitással rendelkeznek. A rendelkezésre álló, specifikus és nagy fajlagos aktivitású radioligandok száma azonban kevés, amely korlátozza az adenzin-receptorok PET vizsgálatának lehetőségeit. Ezen túlmenően, jelenleg minden, PET izotóppal jelölt adenzin-receptor ligand az antagonisták csoportjába tartozik.

Mindezek alapján célul tűztük ki, hogy pozitronemittáló izotóppal jelölt adenzin agonistákat állítunk elő.

A leggyakrabban használt négy PET izotóp, a szén-11, a nitrogén-13, az oxigén-15 és a fluor-18 közül ez utóbbit választottuk; a fluor-18 viszonylag hosszú felezési ideje (110 perc) lehetővé teszi a hosszabb kísérleti protokollok elvégzését, szemben három rövid felezési idejű (2-20 min) radionukliddal. Fluor-18 izotópot alkalmazva lehetőségünk van többlépéses radiokémiai szintézisek megvalósítására, valamint közepesen lassú biológiai folyamatok tanulmányozására.

A munkám során tanulmányoztam a fluor-18 izotópnak az adenzin típusú molekulák előre megválasztott helyére történő beépítését. Különböző stratégiákat dolgoztam ki olyan prekursorok előállítására, amelyek kiindulási vegyületek lehetnek ezekben a jelölési reakciókban. Az egyik, jó hozammal előállított radioligand elsődleges biológiai értékeléseként elvégzett biodisztribúciós vizsgálatok eredményeit szintén bemutatom.

ÁTTEKINTÉS ÉS ELŐZMÉNYEK

Pozitronemissziós Tomográfia

A pozitronemissziós tomográfia (PET) egy nem-invazív orvosbiológiai képalkotó eljárás, amelynek segítségével az élő szervezetbe juttatott, pozitronemittáló izotóppal megjelölt, biológiai jelzőmolekulák eloszlását kvantitatív módon lehet tanulmányozni. A klinikai gyakorlatban a módszer igen hatásosnak bizonyult a neurológia, a pszichiátria, a kardiológia és az onkológia számos területén.

Magyarország és egyben a közép-európai régió első PET centrumát 1994-ben alapították a Debreceni Orvostudományi Egyetemen.

PET izotópok

A PET-technikában felhasználható izotópoknak az alábbi feltételeket kell teljesíteniük:

- rövid felezési idő
- tiszta β^+ -bomlás (α - vagy β^- -bomlás nem megengedett)
- más bomlási módból származó, 511 keV-től eltérő energiájú γ -fotonok mennyisége nem haladhatja meg a 0,1 %-ot

Az orvosi gyakorlatban használt négy, leggyakoribb PET izotóp a szén-11, a nitrogén-13, az oxigén-15 és a fluor-18. Közülük a fluor-18 radionuklidot alkalmazzák a legszélesebb körben. A radiokémiai jelölést vizsgálataink során is ezzel az izotóppal végeztük.

Receptorok vizsgálata PET-technikával

A receptorok feltérképezéséhez nagy affinitású szelektív ligandokra van szükség, hogy megkülönböztethessük a receptorhoz való specifikus kötődést a háttér struktúrákhoz történő, nem-specifikus kötődéstől. A PET-technikában a különböző receptor-rendszerek vizsgálatához a ligandot meg kell jelölnünk β^+ -emittáló izotóppal. Az ilyen radioligandokkal a biológiai struktúrák olyan alacsony koncentráció-tartományban vizsgálhatóak (pM, fM) laboratóriumi állatokban *in vivo* körülmények között, amely más képalkotó eljárások detektálási küszöbe alatt van. Mivel a gyakorlatban használt valamennyi PET-izotópot ciklotronban állítják elő, és mindegyikük felezési ideje rövid, a radiokémiai szintézis (amelynek során a radionuklidot a célmolekulába beépítjük) végén több nagyságrenddel nagyobb specifikus aktivitású jelzett vegyületet kapunk, mint a hagyományos ^{14}C vagy ^3H jelölés esetén.

Adenozin-receptorok

Az adenozin-receptorok a purinerg (P) receptorok családjához tartoznak, amelynek endogén ligandjai az adenozin, az AMP, az ADP és az ATP. A purinerg receptorokat attól függően, hogy adenin-nukleozidra (adenozin) vagy nukleotidra (ATP) érzékenyek, a P₁ és P₂ csoportba sorolták. Így a P₁ receptorok azonosak az *adenozin-receptorokkal*. Típus szerint ezek a receptorok további négy alcsoportba (A₁, A_{2A}, A_{2B} és A₃) sorolhatóak. Valamennyi adenozin-receptor effektor mechanizmusa G-fehérje kölcsönhatásokra épül. Mindegyik receptor altípust klónozták különböző (köztük humán) fajokból, így azok mesterségesen létrehozott modelleken behatóan tanulmányozhatóak.

Az A₁, A_{2A} és az A₃ típusú receptorokhoz előállított ligandok vagy szelektív agonisták, vagy szelektív antagonisták, de az A_{2B} receptorokhoz, a szerző tudomása szerint, eddig még nem szintetizáltak szelektív hatású ligandokat.

Agonisták

Az adenozin-receptorok eddig azonosított endogén ligandja maga az adenozin. Az adenozin szerkezetének az N⁶, a 2- és az 5'-pozícióban történő módosítása olyan mesterséges ligandokat eredményezett, amelyek segítségével az adenozin-receptorokat meghatározott alosztályokba sorolhattuk. Az N⁶-szubsztituált adenozinok rendszerint A₁-szelektívek (pl. N⁶-ciklopentil adenozin, CPA). A 2'-OH vagy a 3'-OH csoport eltávolítása ellenben kis affinitású, parciális agonistákat eredményezett. Az 5' szubsztituált analógok, pl. a NECA nem-szelektív adenozin-receptor agonisták, kötődésük azonos kötési állandóval jellemezhető minden receptor altípus esetén. A 2-módosított (pl. alkoxi-) adenozinok szelektív A₂ agonisták. A₃ szelektív agonistákat kaphatunk, ha kombináljuk az N⁶, a 2- és az 5'-módosítást.

Antagonisták

Az adenozin-receptor antagonisták prototípusai a xantinok, pl. a teofilin és a koffein. Napjainkban már számos xantin-származékot szintetizáltak, és jellemezték azoknak adenozin antagonistá hatását. Közülük a 8-sztilil-koffeinek nagy affinitású, szelektív A_{2A} antagonistának bizonyultak.

Fluor és izotópjai

A fluor a legnagyobb elektronegativitású elem, és a periódusos rendszer VIIA (halogének) csoportjának első tagja, elektron-konfigurációja 1s²2s²2p⁵, így szigorúan egyvegyértékű.

A fluor mononuklidos elem, csak egyetlen stabil izotópja van, a 19-es tömegszámú. Ezen kívül még hat mesterséges izotópját állították elő, amelyek mindegyike radioaktív.

A radioaktív fluor izotópok közül a fluor-18 a PET-technika legfontosabb izotópja; a viszonylag hosszú felezési ideje (109,7 perc) többlépéses jelölési reakciókat tesz lehetővé, és segítségével lassan lejátszódó biokémiai folyamatokat is tanulmányozhatunk. Az izotóp alacsony β^+ -energiája a képalkotás szempontjából előnyös.

Fluor-18 izotóp csak gyorsítóknak, főleg ciklotronban állítható elő. A lehetséges magreakciók közül az alábbi két folyamatnak van a legnagyobb gyakorlati jelentősége, mivel azok közepes nyalábenergiát és -áramot igényelnek:

- (1) Hozzáadott hordozót tartalmazó (*carrier added, c.a.*), kis specifikus aktivitású ^{18}F -fluor gázt kapunk a $^{20}\text{Ne}(d,\alpha)^{18}\text{F}$ magreakcióban, célszilyként Ne/F_2 (v/v 99,9/0,1) gázkeveréket használva.
- (2) Hozzáadott hordozót nem tartalmazó (*non carrier added, n.c.a.*), nagy specifikus aktivitású ^{18}F -fluorid-iont nyerünk a $^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$ folyamatban. A targetanyag a ^{18}O -izotópra dúsított víz.

Radiofluorozás

Mivel a biológiai rendszerekben nincsenek fluort tartalmazó biomolekulák, így a fluor-18 izotóp beépítése sokszor megváltozott tulajdonságú jelölt molekulát eredményez. Így a jelölés stratégiája az, hogy az izotópot olyan pozícióba építsük be a molekulába, hogy a lehető legkisebb legyen a változás a kiindulási molekula tulajdonságaiban.

A ^{18}F -jelzésnél használt, két legfontosabb cserereakció az F-H és az F-OH csere. A jelölendő molekula eredeti elektronsűrűségét figyelembe véve a F-OH, míg a fluor méretét tekintve a F-H csere a jobb megközelítés.

Nukleofil radiofluorozás

A fluor szerves molekulákba való beépítése nukleofil szubsztitúciós reakcióban jelenleg is a legnehezebb szerves kémiai feladatok közé tartozik. A fluorid-ion kis mérete és kis polarizálhatósága miatt közepesen erős bázisként, és gyenge nukleofilként viselkedik. Ez az oka, hogy a nukleofil szubsztitúciós reakciók szokásos körülményei között inkább elimináció játszódik le.

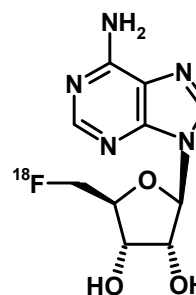
A fluorid-ion vizes- és protikus oldószerekben erősen szolvatált, mert ezekkel az oldószerekkel hidrogénhíd-kötést képes kialakítani. Ezért a nukleofil radiofluorozási reakciókat dipoláris aprotikus oldószerekben végzik, mint a CH_3CN , a DMF vagy a DMSO. Mivel a ^{18}F fluorid-ion oldhatósága ezekben az oldószerekben nagyon kicsi, megfelelő

fázistranszfer katalizátorra van szükség. A nukleofil radiofluorozási reakciókban, széles körben használt fázistranszfer katalizátor a kriptánd-típusú Kryptofix 2.2.2.

CÉLKITŰZÉS

A pozitron emittáló adenzin-receptor ligandok száma jelenleg korlátozott, ráadásul mindegyikük antagonistá. Intézetünkben is csak néhány [¹¹C]-jelölt koffein származék, mint PET-izotóppal jelzett antagonistá állt csupán rendelkezésünkre. Az adenzin-receptor rendszerhez kapcsolódó biokémiai folyamatok mélyebb megértéséhez mindenképpen szükséges jelzett agonisták előállítása is.

Fluor-18 izotópot választottuk jelölő izotópnak, mivel viszonylag hosszú felezési idővel rendelkezik. A fluor-18 izotóp intézetünkben [¹⁸F]fluorid-ion kémiai formában hozzáférhető, amely így leszűkítette a lehetőségünket; olyan reakcióutakat kellett terveznünk, amelyekben a fluor-18 izotópot nukleofil radiofluorozási reakcióban vihettük be a molekulák megfelelő helyére. A nukleofil ágens maga a [¹⁸F]fluorid-ion, a KryptofixTM2.2.2 pedig a fázis transzfer katalizátor.

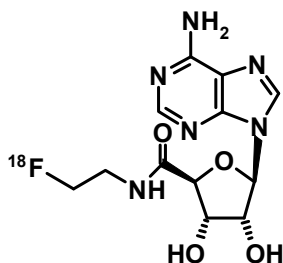


Végül két molekula szintézisét tűztük ki célul, amelyek mindegyike modell-vegyületnek tekinthető. Szintézisük kidolgozása további fluor-18 jelzett specifikus adenzin-receptor ligand előállításához szolgálhat kiindulási pontként.

Célunk volt az 5'-deoxi-5'-[¹⁸F]fluoroadenozin és az 5'-N-(2-[¹⁸F]fluoroetil)-karboxamidoadenozin előállítása és ez utóbbi vegyület biológiai viselkedésének elsődleges értékelése.

5'-deoxi-5'-[¹⁸F]fluoroadenozin várhatóan megfelelő modell-vegyület lehet az adenzin-receptor rendszer PET-vizsgálatához; az adenin rész módosítása különböző receptor altípusokra szelektív ligandokat eredményezhet, mint például a legszelektívebb A₁ receptor agonisták közé tartozó N⁶-alkil- és cikloalkil-származékok.

5'-N-(2-[¹⁸F]fluoroetil)-karboxamidoadenozin ([¹⁸F]FNECA), mint a NECA fluor-18 jelzett analógja, várhatóan PET izotóp jelzett agonista lesz, valamennyi A_{2B} receptor specifitással. Továbbá, ha a szintézisutat úgy módosítjuk, hogy a C2 vagy N⁶ pozícióban szubsztituált adenzin-származékból indulunk ki, akkor A_{2A} illetve A₃ szelektivitású jelzett ligandot kaphatunk. A NECA-nak hasonló az affinitása az A₁, A_{2A} és A₃ receptorok mindegyikéhez, és nM-os nagyságrendű disszociációs állandóval jellemezhető, ezért a [¹⁸F]FNECA jelzett liganddal mindhárom típus *in vivo* vizsgálható. Az egyes



altípusok külön is tanulmányozhatóak, ha a többi altípusú kötőhelyeket nagy szelektivitású antagonistákkal telítjük.

KÍSÉRLETI RÉSZ

Ciklotron és céltárgy

Tanulmányaink során a fluor-18 izotópot az MTA Atommagkutató Intézetének MGC-20-E izokrón ciklotronjában állítottuk elő. A ciklotron és a nyalábtovábbító rendszer a D. Efremov Elektrofizikai Készülékgyártó Tudományos Intézetben (NIEFA, Szentpétervár) készült.

Automata radiofluorozó rendszer

Minden radiofluorozási reakciót egy számítógép vezérelt, automata szintézis-panelen végeztük, amely az alábbi fő részekből állt:

- (1) Besugárzott vizet szállító rendszer
- (2) Ioncserélő modul, amely a [^{18}F]fluoridot elválasztotta a ^{18}O -dúsított víztől
- (3) Hőmérővel és radioaktivitás-detektorral ellátott reakcióedény
- (4) Vezérelt adagoló-és transzport rendszer

Analitikai módszerek

A vizsgálataink során használt analitikai módszerek főleg spektroszkópiás és kromatográfiás módszerek voltak. A fluor-18 rövid felezési idejét figyelembe véve praktikus és gyors analitikai módszerekre volt szükségünk. A fluor-18 hordozó-mentes (*carrier-free*) formában van, körülbelül 10^{-9} - 10^{-11} M koncentráció-tartományban. Ez azt jelenti, hogy vegyületeit csak a gamma sugárzása, vagyis radioaktivitása alapján tudjuk detektálni. A radioaktív anyagok HPLC-s és TLC analíziséhez, valamint azok monitorozására az anyag transzportáláskor és a desztillálás során ennek megfelelően gamma-detektálást alkalmaztunk.

Kémia

A ^{18}F radionuklid előállításához a $^{18}\text{O}(\text{p},\text{n})^{18}\text{F}$ magreakciót választottuk, 14,5 MeV energiájú proton-nyalábbal. Az izotópot [^{18}F]fluorid-ion formában nyertük közvetlenül a céltárgyból.

Oldószereket és vegyszereket a Mercktől (Darmstadt, Németország), a Sigma-Aldrich-től (Gillingham, Anglia) és a Reanal-tól (Magyarország) szereztük be. A target anyagként használt, [^{18}O] izotópra dúsított vizet a CAMPRO Scientific-től (Hollandia) vásároltuk. Minden adenozin-származékot a Debreceni PET Centrumban állítottuk elő, adenozinból kiindulva.

Biológia

Az állatkísérleteket a Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum Állatkíméleti Tudományetikai Bizottság által engedélyezett protokoll szerint végeztük.

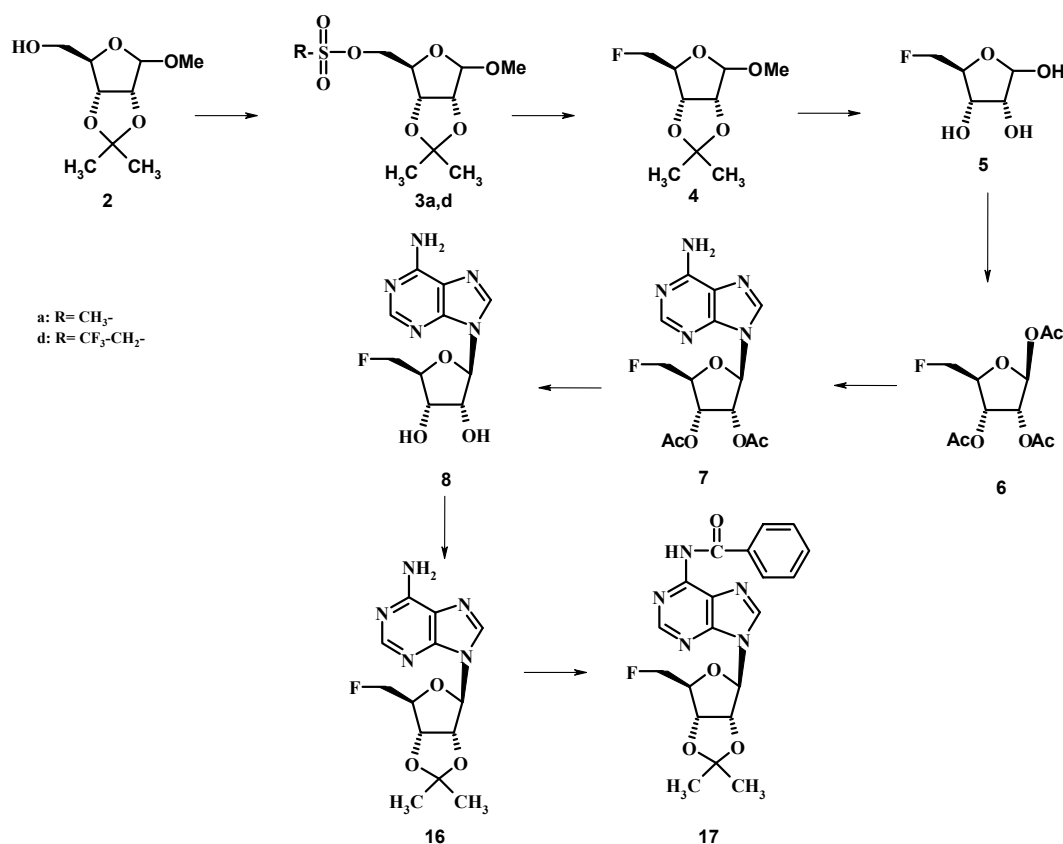
Autoradiográfiás (ARG) vizsgálat: Az *in vitro* ARG vizsgálatokhoz egéragy- és szívmetseteket használtunk, amelyeket V-3000-R/A Vibrotome típusú rezgőkéses mikrotommal metszettünk (Energy Beam Sciences Inc.), és felhasználásig $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tároltuk. A specifikus kötődést kompetíciós kísérletekben bizonyítottuk. A kontrolljelöléseknél az agy- és szívmetseteket fiziológias oldatban ($\text{pH}=7,2$) inkubáltuk $20\text{ }\mu\text{Ci/ml}$ [^{18}F]FNECA jelenlétében, 100 nM ligandkoncentráció mellett. A párhuzamosan végzett leszorításos kísérletekben az inkubáló oldat $20\text{ }\mu\text{Ci}$ [^{18}F]FNECA radioligandon kívül még $100\text{ }\mu\text{M}$ jelöletlen FNECA-t is tartalmazott. Az inkubálási idő mindkét esetben 20 perc volt. Ezt követően a mintákat háromszor mostuk hideg fiziológias oldattal. A metseteket a Phosphor Imager (Molecular Dynamics) lemezeire helyeztük, és a ^{18}F aktivitás-koncentráció eloszlását 2 órás inkubálás után értékeltük az ARG kiolvasó berendezés segítségével.

PET vizsgálat: A kísérletekbe bevont nyulak átlagsúlya $2,1\pm 0,2\text{ kg}$ volt. Az állatokat uretán ($0,5\text{ g/kg}$) és alfa-klóralóz (50 mg/kg) i.p. injektálásával altattuk el, majd kipreparáltuk az egyik femorális artériát és femorális vénát. A PET vizsgálatokhoz $0,5\text{-}1\text{ mCi}/30\text{-}60\text{ nmol}$ [^{18}F]FNECA radiofarmakont injektáltunk intravénásan 2 ml fiziológias oldatban. A dinamikus PET-fevételeket GE 4096 Plus típusú egésztest PET-kamerával végeztük. Az állatot úgy helyeztük a PET-kamera látómezejébe, hogy az állat testének tengelye párhuzamos volt a detektorgyűrű síkjával. Az így készített 15 darab saggitalis metszet közelítőleg magában foglalta az állat egész testét. A PET vizsgálattal párhuzamosan mintegy 20 artériás vérmintát gyűjtöttünk heparinózott fecskendőkkel. A levett vérmintákat eppendorf centrifugában 2000 g mellett centrifugáltuk 3 percig, majd kalibrált gamma-számlálóval (Canberra-Packard) meghatároztuk a radioaktivitás-koncentrációt a plazmában, illetve az üledékben (sejtes közeg). A szöveti elnyelődés miatti korrekcióhoz ^{68}Ge külső sugárforrással készítettünk transzmissziós felvételt. A kiválasztott szervek akkumulációs kinetikájának meghatározásához az időben egymást követő PET-képek azonos módon kijelölt térfogataiban összegeztük a [^{18}F]FNECA mennyiségét jelző radioaktivitást.

EREDMÉNYEK ÉS MEGBESZÉLÉS

5'-dezoxi-5'-fluoroadenozin

Az inaktív 5'-dezoxi-5'-fluoroadenozint (**8**), a referencia anyagot egy soklépéses reakcióban állítottuk elő, ahogyan azt a 1. Reakcióvázlaton láthatjuk.



1. Reakcióvázlat Az inaktív 5'-dezeoxi-5'-fluoroadenozin (és N⁶-benzoi-5'-dezoxi-5'-fluoro-2',3'-izopropilidénadenozin) szintézise

A szintézis kiinduló anyaga a megfelelően védett **2** ribóz-származék, amelynek szokásos módon elvégzett mezilezésével kaptuk a kristályos **3a** vegyületet. **3a**-t ezután kálium-fluoriddal reagáltattuk metanolos közegben 160°C-on 24 óráig, és a **4** fluoro-ribozidot kaptuk, amely analitikailag tiszta olaj. Alternatívaként a **4** vegyületet a **3d** treziláton keresztül is előállítottuk. A **4** savas hidrolízise után kaptuk az **5** fluor-vegyületet világos, könnyű olaj formájában, és szerkezetét ¹H-NMR spektroszkópiával bizonyítottuk.

Végül az **5** vegyületet ecetsavanhidriddel acetileztük piridines közegben, és a kristályos **6** vegyületet kaptuk. A **6** triacetát nagyon fontos termék: kiinduló vegyülete a nukleozid kondenzációs reakciónak, amely a **8** 5'-deoxi-5'-fluoroadenozin előállításánál az adenozin-struktúrát kialakító, legfontosabb lépés. Bár ez a kondenzációs reakció az irodalomból jól ismert, mégis módosítanunk kellett a szokásos TMSTf-módszert, hogy a kívánt **7** diacetil-adenozin származékot legalább közepes hozammal kinyerjük. A módosítás lényege az volt, hogy a reakcióban védőcsoportot nem tartalmazó, szililezett adenint használtunk. Végül a **7** vegyületet dezacetileztük a Zemplén-reakcióban, és **8** célvegyületet kaptuk. A **8** higroszkópos fehér kristályos anyag, amelynek szerkezetét ¹H-NMR-spektroszkópiával bizonyítottuk.

Az 5'-deoxi-5'-[¹⁸F]fluoroadenozint (**8***), a ¹⁸F-jelzett adenozin analógot nukleofil szubsztitúciós reakciókban állítottuk elő két különböző típusú prekurból kiindulva; a nukleofil ágens mindkét esetben maga a [¹⁸F]fluorid-ion volt, fázistranszfer katalizátorként KryptofixTM2.2.2-t használtunk.

Szintézis 5'-deoxi-5'-haloadenozinokból kiindulva

A **8*** előállításának egy egyszerű és ígéretes módja a nukleofil szubsztitúciós reakció 5'-halogénezett adenozinokból. Az alifás szubsztitúciós reakciókban távozó csoportként különösen a brómot és a jódot használják széleskörűen. Az 5'-vegyületcsalád alapos jellemzése céljából, az 5'-klorid és az 5'-fluorid (homogén izotóp csere) viselkedését is vizsgáltuk a radiofluorozási reakcióban.

Megállapítottuk, hogy az 5'-deoxi-5'-haloadenozinok átalakíthatók 5'-deoxi-5'-[¹⁸F]fluoroadenozinná a radiofluorozási reakcióban, ha [¹⁸F]KF/Kryptofix2.2.2-t használunk nukleofil ágensként 120 °C-on dimetilformamidban (DMF). A radiofluorozás reakcióideje 30 perc volt. Ilyen körülmények között csak a várt halogéncsere reakció játszódott le. A radiofluorozási reakció komponenseit az R_f-értékük alapján azonosítottuk.

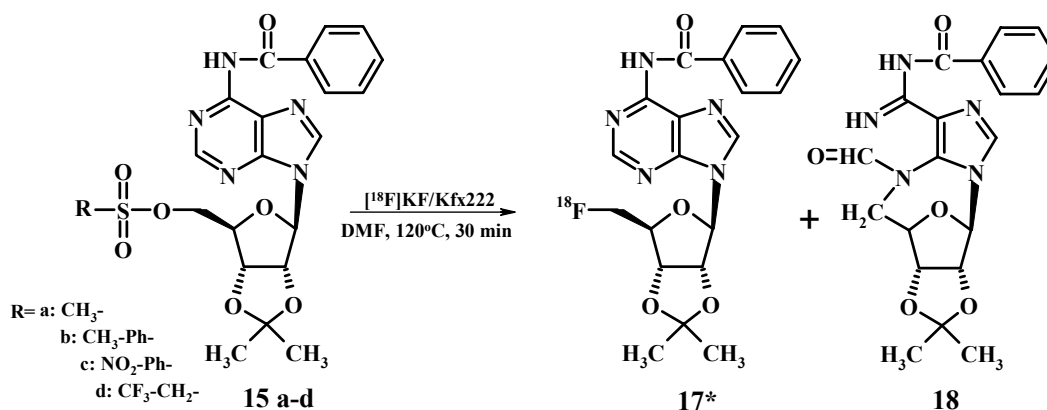
Az alábbi táblázat mutatja az 5'-deoxi-5'-[¹⁸F]fluoroadenozin hozamát a szintézis végén. Minden egyes adatpont három párhuzamos mérés átlaga.

Prekurbor	Prekurbor mmol/ml DMF	Prekurbor	Hozam
		mg	%
FAdo	0,13/2	35	0
ClAdo	0,13/2	38	0,25
BrAdo	0,13/2	44	0,49
IAdo	0,13/2	50	1,07

A homogén fluor izotópcseré reakcióban a [¹⁸F]KF/Kryptofix2.2.2 kiindulási anyag csúcsán kívül (R_f 0,00) semmilyen egyéb radioaktív csúcsot nem detektáltunk. A többi esetben fluor-18 beépülést detektáltunk, amely egy állandó R_f értéknél megjelenő másik radioaktív csúcs mutatott. A prekursorok reaktivitása a I>Br>Cl sorrendben csökkent, azonban a halogén-fluor-18 csere a várakozásnál jóval kisebb mértékű volt minden esetben. Ezt az eredményt az amino-csoport protonja szolvatációs hatásának tulajdoníthatjuk, amely számottevően csökkenti a meztelen ¹⁸F-anion nukleofilítást.

Szintézis N⁶-benzoil 2',3'-izopropilidénadenozin-5'-szulfonátokból kiindulva

Az első kísérletünk hozama az 5'-dezoxi-5'-[¹⁸F]fluoroadenozinnak 5'-haloadenozinokból való előállítására igen alacsony volt, ezért célmolekulánkat egy másik módon kívántuk előállítani, amely a megfelelően védett **15a-d** 5'-szulfonát származékából indult ki. Ezek a vegyületek, azaz az N⁶-benzoil 2',3'-izopropilidénadenozin-5'-szulfonátok, metán-(mezilát), *p*-toluol-(tozilát), *p*-nitro-benzol-(nozilát)- és 2,2,2-trifluoroetán-szulfonát (trezilát) megfelelő prekursorok tűnnek, hogy a meztelen [¹⁸F]fluorid-ionnal való reakciójukban a megfelelő **17*** 5'-[¹⁸F]fluor-vegyület keletkezzen (2. Reakcióvázlat). E vegyület hidrolízise szolgáltatja a **8*** 5'-dezoxi-5'-[¹⁸F]fluoroadenozint, a célszubsztanciánkat.



2. Reakcióvázlat A [¹⁸F]KF/Kryptofix2.2.2 reakciója az N⁶-benzoil 2',3'-izopropilidénadenozin-5'-szulfonátokkal

Az izopropilidén csoport szabadon hagyja az 5'-OH csoportot, ahová ezután a szulfonil egység bevihető. Az adenin rész N⁶ amino-csoportjának acilezése pedig drasztikusan lecsökkenti az N³ nitrogén nukleofilítást.

A szulfonil-csoport reakcióképességének alapvető hatása van a reakció kimenetelére: minél reaktívabb a szulfonil csoport, annál gyorsabb a szubsztitúció és az esetleges mellékreakciók (pl. elimináció) visszaszorulnak. Ezért megpróbáltuk az 5'-trifluorometánszulfonátot (triflát) szintetizálni, az egyik legreaktívabb szulfonátot, azonban a reakcióelegyből minden kísérletünkben a **18** ciklikus terméket nyertük. Ez a megfigyelés arra utalt, hogy az N³ még mindig erős nukleofil ahhoz, hogy az N³,5'-ciklonukleozid kialakulhasson. Így előállítottuk a **15a-d** szulfonátokat, amelyek közül a mezilát (**15a**) és a tozilát (**15b**) bizonyult kellően stabilnak ahhoz, hogy hosszabb ideig eltarthassuk közönséges körülmények között. Analizáltuk a négy szulfonát viselkedését a radiofluorozási reakcióban.

A radiofluorozási reakciót a szokásos körülmények között végeztük. A közös radioaktív terméket úgy azonosítottuk, hogy az R_F-értékét összehasonlítottuk az autentikus inaktív standard R_F-értékével TLC-n. A TLC analízis azt mutatta, hogy mindegyik reakcióban ugyanaz a közös radioaktív termék keletkezett, valamint azt is, hogy egy közös inaktív termék is keletkezik a reakciókban, amely azonos a **18** ciklonukleoziddal.

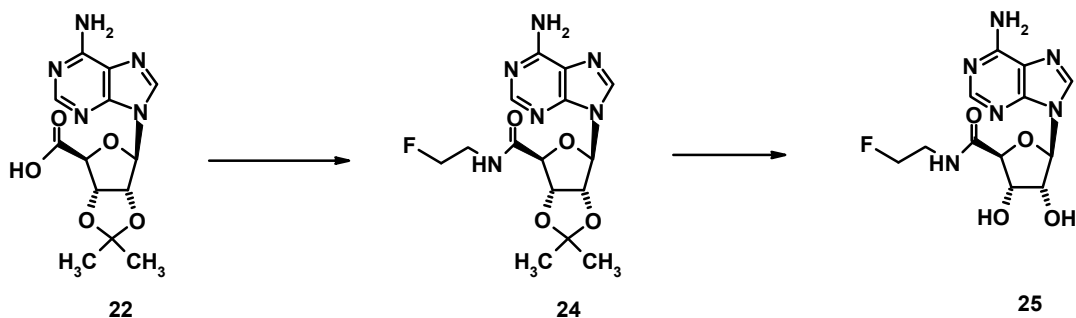
Az alábbi táblázat mutatja az 5'-deoxi-5'-[¹⁸F]fluoroadenozin kitermelését a négy prekursorból kiindulva. Minden egyes adatpont három párhuzamos mérés átlaga.

Prekursor	Prekursor mmol/2ml DMF	Prekursor mg	Hozam %
Mezilát	9,2	45,0	1,17
Tozilát	9,2	52,1	1,46
Nozilát	9,2	56,2	0,99
Trezilát	9,2	51,3	0,40

Az eredmények tehát azt mutatják, hogy a radiofluorozás csak nagyon kis mértékben ment végbe; a fluor-18 beépülés meglehetősen kicsi volt, és a reakció főterméke a **18** ciklizált vegyület.

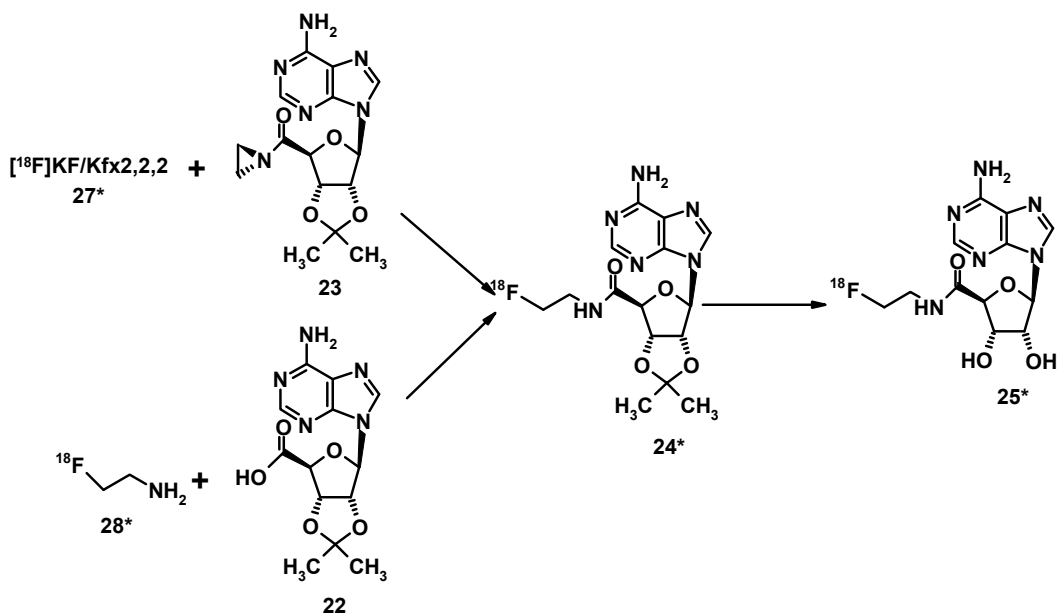
FNECA

Az inaktív 5'-N-(2-fluoroetil)-karboxamidoadenozin (**25**), a referencia anyag szintézisének első lépése a **22** sav és a 2-fluoroetilamin sósavas sója közötti reakció piridines közegben. A keletkező **24** hidrolízise eredményezte a **25** FNECA-t (3. Reakcióvázat), amelynek szerkezetét ¹H-NMR-spektruma alapján azonosítottuk.



3. Reakcióvázlat A nem radioaktív FNECA szintézise

Az 5'-N-(2-[^{18}F]fluoroetil)-karboxamidoadenozint (^{18}F FNECA), ezt az ígéretes, ^{18}F -jelzett adenosin agonistát két különböző szintézisúton állítottuk elő. A ^{18}F -fluorid-ionnal történő jelölést egyrészt a radioaktív ion és egy megfelelő aktiváló csoportot tartalmazó prekursor közötti közvetlen reakciójaként végeztük el, másrészt a ^{18}F -fluorid-iont először egy kis méretű molekulába építettük, amely ezután kovalens kötést alakított ki a prekursor molekulával. Ezt a két szintézisutat a 4. Reakcióvázlaton mutatjuk be.



4. Reakcióvázlat Az 5'-N-(2-[^{18}F]fluoroetil)-karboxamidoadenozin előállítására két különböző szintézisúton.

Szintézis aziridin típusú prekursorból kiindulva

Az első megközelítésben **23** vegyület aziridin egysége reagál a [¹⁸F]fluorid-ionnal, és a gyűrű felnyílása után a kívánt **24*** vegyület keletkezik, amely tartalmazza a 2-[¹⁸F]fluoroetilamin csoportot. Ez a reakció azonban csak kis hozammal ment végbe: a **24*** jelzett vegyület hozama 1±1 %-nak bizonyult a [¹⁸F]fluorid aktivitásában kifejezve.

Szintézis 2-[¹⁸F]fluoroetilaminon keresztül

Második kísérletünkben először előállítottuk a **28*** 2-[¹⁸F]fluoroetilamint az irodalomban leírt módszerrel 27±11 % hozammal ([¹⁸F]fluorid aktivitásra számolva), és átdesztilláltuk egy másik reakcióedénybe, amely a **22** prekuzort tartalmazta. A **22** képes a 2-[¹⁸F]fluoroetilamint amid kötésen keresztül kötni DICl, egy karbodiimid típusú kapcsoló ágens jelenlétében. Ennek a kapcsolási reakciónak a hozamát 94±13 %-nak mértük az átdesztillált 2-[¹⁸F]fluoroetilamin aktivitására vonatkoztatva.

Az izopropilidén gyűrűt 90 %-os hangyasavval majdnem kvantitatívan (97±5 %) eltávolítottuk, és így kaptuk a **25*** célmolekulánkat. Ezután a hangyasavat nitrogén áramban eltávolítottuk, a maradékot vízben újra feloldottuk és szűrtük. Mivel a szűrlet sok inaktív mellékterméket tartalmazott, szükséges volt annak preparatív HPLC-s tisztítása. A veszteség a szűrés és a kromatográfias tisztítás során 30±9 % volt (n=5).

Ezzel a módszerrel a biológiai PET vizsgálatokhoz elegendő mennyiségű [¹⁸F]FNECA-t tudunk előállítani.

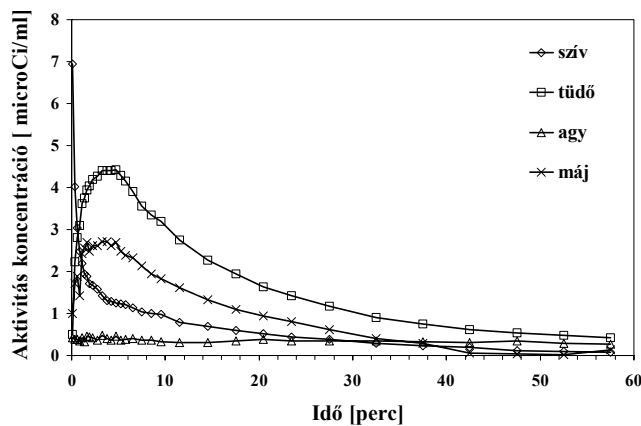
Biológiai vizsgálatok

In vitro autoradiográfias vizsgálatokat végeztünk egéragyban és -szívben, hogy feltérképezzük az A₁ receptorok eloszlását. A jelzett ligand nagymértékű halmozódását észleltük egéragszeleteken és szívszeleteken. Különösen magas [¹⁸F]FNECA akkumulációs szintet detektáltunk a cortexben, a hippocampusban és a cerebellumban. A jelzett ligand elsősorban az agy A₁-receptor-eloszlását mutatja, mivel az agyban expresszálandó P₁-receptorok közül az A₁-receptor denzitása a legnagyobb. A receptor-ligand specifikus kötődés mellett szólnak azok a kompetíciós kísérletek, amelyekben nagy túlsúlyban lévő hideg FNECA jelenlétében a kontrollértékek töredékének megfelelő [¹⁸F]FNECA felhalmozódást tapasztaltunk.

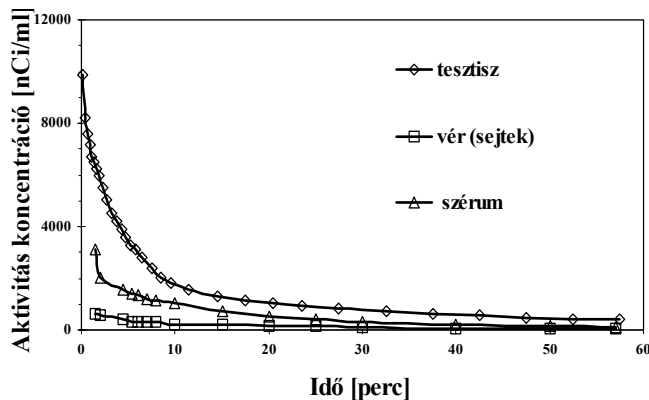
A dinamikus PET vizsgálatok során a [¹⁸F]FNECA beadásától kezdődően 58 percen át monitoroztuk a receptor-ligand szöveti felhalmozódását. Az egymást követő expozíciókból különböző szöveti régiókban meghatároztuk a ligand akkumulációs kinetikáját. A máj és a tüdő szöveteiben halmozódó [¹⁸F]FNECA 5-6 perc alatt éri el a maximális koncentrációját, a szívben és a tesztiszben ez 2 percnél rövidebb idő alatt következett be. Fokozott ligandakkumulációt mértünk a belekben is, ami összhangban áll a

bélfal simaizomrétegeiben található nagy A_1 -adenozin-receptor denzitással. A vizsgálat alatt vett artériás vérminták analiziséből megállapítottuk, hogy a vörsejtekhez kötött radiofarmakon mennyisége és a szérum $[^{18}\text{F}]\text{FNECA}$ koncentrációja a 2. perc után mintegy 10 perces felezési idővel csökken.

A pozitronemittáló izotóppal jelölt $[^{18}\text{F}]\text{FNECA}$ agonista az előzőekben részletezett sajátosságai révén jól használható a P_1 típusú adenzin-receptorok eloszlásának, valamint receptorregulációs folyamatoknak *in vivo* vizsgálatára.



1. Ábra A $[^{18}\text{F}]\text{FNECA}$ *in vivo* szöveti felhalmozódásának kinetikája a szívben, a tüdőben, az agyban és a májban



2. Ábra A $[^{18}\text{F}]\text{FNECA}$ *in vivo* szöveti felhalmozódásának kinetikája a vér alakos elemeiben, a szérumban és a tesztiszben

KÖVETKEZTETÉSEK

Jelzett adenzin agonisták előállítása elengedhetetlen az adenzin-receptor rendszerhez kapcsolódó biokémiai jelenségek részletes megismeréséhez. Két ilyen molekula előállítását tűztük ki célul; mindkét molekula egyfajta modell-vegyületnek tekinthető: szintézisük kidolgozása lehetővé teszi, hogy további specifikus, fluor-18 jelzett adenzin-receptor ligandokat állítsunk elő a szintézisutak módosításával.

Az első molekula az *5'-deoxi-5'-[18F]fluoroadenzin*, amelyet két különböző módon állítottunk elő.

Az első kísérletünkben a fent jelzett molekulát halogéncsere reakciókban állítottuk elő 5'-deoxi-5'-haloadenzinokból kiindulva. A reakciók hozama (azaz a fluor-18 felvétel) azonban nagyon alacsonynak bizonyult és a halogén-szén kötés energiájától függően változott: 0,248 % a klór-, 0,488 % a bróm- és 1,070 % a jódszármazék esetén; a fluorvegyületből kiindulva egyáltalán nem tapasztaltunk fluor-18 beépülést.

A második kísérletünkben N⁶-benzoiil 2',3'-izopropilidénadenzin-5'-szulfonátokból indultunk ki. A kapott eredmények azt mutatják, hogy a fluor-18 beépíthető ugyan ezekbe a molekulákba is, azonban a reakciók hozama ebben az esetben is nagyon alacsony: a fluor-18 felvétel 1,17 %-os mezilátnál, 1,46 %-os a tozilátnál, 0,99 %-os a nozilátnál és 0,40 %-os a trezilát esetén.

A kapott eredmények alapján arra következtettünk, hogy az 5'-deoxi-5'-[¹⁸F]fluoroadenzint csak alacsony hozammal állíthatjuk elő adenzin struktúrájú prekursorokból kiindulva. Vagy egy teljesen új és hosszadalmas szintézisutat kell kidolgoznunk, amelyben először a szénhidrát részt jelöljük fluor-18 izotóppal, majd ezután az adenin rész hozzákapcsolásával alakítjuk ki a kívánt 5'-[¹⁸F]fluoro-származékot, vagy fel kell adnunk azt, hogy az adenzint az 5'-helyen jelöljük, helyette egy megfelelően előkészített adenzin típusú prekursor adenin részébe építenénk be a fluor-18 izotópot.

A másik célvegyületünket, az *5'-N-(2-[18F]fluoroetil)-karboxamidoadenzint* (*[¹⁸F]FNECA*) szintén kétféle módszerrel állítottuk elő.

Az első kísérletünkben a [¹⁸F]fluorid-iont 5'-N,N-etilén-2',3'-O-izopropilidén-karboxamidoadenzinnal reagáltattuk, majd a védőcsoport eltávolítása után nyertük a [¹⁸F]FNECA-t alacsony radiokémiai hozammal (1±1 %).

A második kísérletünkben 2-[¹⁸F]fluoroetilamint reagáltattuk 2',3'-O-izopropilidénadenzin-5'-uronsavval karbodiimid típusú kapcsoló-agens jelenlétében, és az azt követő hidrolízis után a [¹⁸F]FNECA-t nyertük közepes radiokémiai hozammal. Preparatív RP-

HPLC-s tisztítás után 18,9-166,5 MBq (0,51-4,5 mCi) [¹⁸F]FNECA-t kaptunk, amelynek specifikus aktivitása több mint 2,35±1,14 TBq/mmol (63,5±30,9 Ci/mmol). A teljes szintézis mintegy 200 percig tartott, bomláskorrigált radiokémiai hozama 17±9 % [¹⁸F]fluorid-ion aktivitásra számítva, radiokémiai tisztasága pedig 99,9 %. Ezzel a módszerrel a biológiai PET vizsgálatokhoz elegendő mennyiségű [¹⁸F]FNECA-t tudunk előállítani.

Az elsődleges biológiai tanulmányok alapján [¹⁸F]FNECA hasznos radiofarmakonnak ígérkezik a különböző szövetekben található P₁ típusú adozin-receptorok feltérképezésében. Ezek a tanulmányok a nem radioaktív- és a fluor-18 jelzett FNECA-val jelenleg is folynak a Debreceni PET Centrumban.

PUBLIKÁCIÓK

Az értekezés alapjául szolgáló saját közlemények

1. **Sz. Lehel**, G. Horváth, I. Boros, P. Mikecz, T. Márián, L. Trón: *Synthesis of 5'-deoxy-5'-[¹⁸F]fluoro-adenosine by radiofluorination of 5'-deoxy-5'-haloadenosine derivatives*, **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, Vol. **245**, No. **2(2000)** 399-401 (Impact factor: 0,605)
2. **Sz. Lehel**, G. Horváth, I. Boros, P. Mikecz, J. Szentmiklósi, T. Márián, L. Trón: *Synthesis of 5'-N-(2-[¹⁸F]Fluoroethyl)-carboxamidoadenosine: a Promising Tracer for Investigation of Adenosine Receptor System by PET Technique*, **Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals**, **43(2000)** 807-815 (Impact factor: 0,941)
3. **Sz. Lehel**, G. Horváth, I. Boros, L. Trón: *Investigation for the Nucleophilic Substitution Reaction of [¹⁸F]fluoride ion on the Series of N⁶-Benzoyl 2',3'-Isopropylidene-Adenosine-5'-Sulfonates*, **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, Vol. **251**, No. **3(2002)** 413-416 (Impact factor: 0,605)
4. Márián T., **Lehel Sz.**, Lengyel Zs., Balkay L., Horváth G., Mikecz P., Miklovicz T., Fekete I. és Szentmiklósi A. J.: *A [¹⁸F]-FNECA széleskörűen alkalmazható radioligands a purinerg receptorexpresszió PET-vizsgálatához*, **Orvosi Hetilap** **143(21)(2002)** Suppl. **3** 1319-1322

Az értekezésben részben felhasznált saját közlemények

5. I. Boros, G. Horváth, **Sz. Lehel**, T. Márián, Z. Kovács, J. Szentmiklósi, G. Tóth, L. Trón, *[¹¹C]-labelling of some caffeine derivatives for mapping adenosine A_{2a} receptors by PET technique*, **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, Vol. **242**, No. **2**(1999) **309-312** (Impact factor: 0,605)
6. Mikecz P., Tóth Gy., Horváth G., **Lehel Sz.**, Kovács Z., Pribóczki É., Boros I., Miklovicz T. és Márián T., *Radiógyógyszerek előállítása pozitronemissziós tomográfiás vizsgálatokhoz*, **Orvosi Hetilap** **143(21)(2002) Suppl. 3 1240-1242**

Egyéb megjelent publikációk és kéziratok

1. Cs. Benyei, **Sz. Lehel**, F. Joo: *Transfer Hydrodehalogenation of Alkyl Halides Catalysed by Water Soluble Ruthenium(II) Phosphine Complexes*, *J. Mol. Catal. A:Chem.* **116**(1997) 349 (Impact factor: 1,659)
2. L. Balkay, T. Molnár, I. Boros, **Sz. Lehel**, T. Galambos: *Quantification of FDG Uptake by Using Kinetic Models*, In *Positron Emission Tomography: A Critical Assessment of Recent Trends*, edited by Gulyás, B. and Müller-Gartner, W.H., Kluwer Academic Publisher, Dordrecht, 1998 p153-162
3. Szakáll S., Boros I., Balkay L., Emri M., Fekete I., Kerényi L., **Lehel Sz.**, Márián T., Molnár T., Varga J., Bereczki D., Csiba L., Gulyás B.: *Cerebral Effects of a Single Dose of Intravenous Vinpocetine in Chronic Stroke Patients: a PET Study*, *J. Neuroimaging* **8**(4)(1999) 197 (Impact factor: 1,044)

4. A. S. El-Wetery, Kh. M. El-Azoney, A. A. El-Mohty, E. A. El-Ghany and **Sz. Lehel**, *Fast Radioiodination of 2',3'-O-Isopropylidene-5'-tosyl-N6-benzoyl adenosine (PTBA) Using Different Catalysts in Dry State*, accepted for publication in *Radioch. Acta* (Impact factor: 0,775)
5. Veress G., Balkay L., Boros I., Emri M., **Lehel Sz.**, Márián T., Molnár T., Szakáll Sz., Szeócs I., Trón L., *WWW a DOTE PET Centrumban*. *Informatika a felsőoktatásban 96* (Eds: Bakonyi P., Herdon M.), Debrecen, Universitas. p1163-1166
6. Gulyás B., Bönöczk P., Vas Á., Csiba L., Bereczki D., Boros I., Szakáll Sz., Balkay L., Emri M., Fekete I., Galuska L., Kerényi L., **Lehel Sz.**, Márián T., Molnár T., Varga J. és Trón L.: *Egyszeri vinpocetin-infúzió agyi anyagcserére gyakorolt hatásának vizsgálata territoriális típusú ischaemiás stroke-ot szenvedett betegeken*, *Orvosi Hetilap* **142**(9)(2001) 443
7. Kőszegi Zs., Galuska L., Szakáll Sz., **Lehel Sz.**, Fülöp T., Édes I. és Balkay L., *A metabolikus PET-vizsgálatok helye a kardiológiai képalkotó eljárások között*, *Orvosi Hetilap* **143**(21)(2002) Suppl. 3 1314-1316

Poszterek és előadások

1. A. Cs. Benyei, **Sz. Lehel**, F. Joo, D.J. Darensbourgh and J. H. Reibenspies: *Hexa-aqua-ruthenium(II) as a Versatile Starting Material in Organometallic and Homogeneous Catalytic Reactions*, Conference poster, *Homogeneous Catalysis*, 1996, August, Jerusalem, Israel, Conference Book 303
2. **Sz. Lehel**, I. Boros, Gy Tóth, L. Trón: *2,3-O-isopropylidene 5-triflic-adenosine: a Promising Precursor for the Synthesis of [¹⁸F]-labelled Adenosine Derivatives* Conference poster, XXIst World Conference of the

- International Society for Fluorine Research, Budapest, August 1996, Conference Book 53
3. I. Boros, **Sz. Lehel**, Gy Tóth, L. Trón: [^{18}F]-Fluoride Production at the Debrecen PET Centre, Conference poster, XXIst World Conference of the International Society for Fluorine Research, Budapest, August 1996, Conference Book 54
 4. **Lehel Sz.**, Horváth G., Boros I., Trón L.: *Adenozin-receptorok vizsgálatára alkalmas ^{18}F -jelzett vegyületek előállítása*, Konferenciaposzter és előadás, MONT X. Kongresszus, Bükkfürdő, 1997 szeptember, **Magyar Radiológia** (1997) Suppl.1. 12
 5. Boros I., Horváth G., **Lehel Sz.**, Lengyel Zs., Kovács Z., Márián T., Sarkadi É. és Trón L.: *A₂ szelektív adenozin-receptor ligand előállítása a DOTE PET Centrumban*, Konferenciaposzter és előadás, MONT X. Kongresszus, Bükkfürdő, 1997 szeptember, **Magyar Radiológia** (1997) Suppl.1. 12
 6. Boros I., Horváth G., **Lehel Sz.** és Trón L.: *Radiokémiai fejlesztési programok a debreceni PET Centrumban*, Konferenciaposzter és előadás, MONT X. Kongresszus, Bükkfürdő, 1997 szeptember **Magyar Radiológia** (1997) Suppl.1. 12
 7. Pikó B., Borbola Gy., **Lehel Sz.**, Tóth E., Hajdú M., Ésik O.: *Szokatlan lokalizációjú, disszeminált tumor diagnosztikájának és kezelésének problémái*, Konferenciaposzter, Magyar Onkológusok Társaságának XXII. nemzeti kongresszusa, 1997. november, Budapest, **Magyar Onkológia** 41(4)(1997) 322.
 8. G. Horváth, T. Márián, I. Boros, Zs. Lengyel, **Sz. Lehel**, Z. Kovacs, J. Szentmiklósi and L. Trón: *^{11}C -Labelled 8-(3-Chlorostyryl)Caffeine as a Possible PET Tracer for Mapping A_{2A} Adenosine Receptors in the CNS and Myocardium*, Conference Poster, 1997 November, Aachen, Germany, Abstract Book 13

9. Balkay L., Emri M., Molnár T., Márián T., Boros I., **Lehel Sz.**, Trón L.: *Kvantitatív szöveti glükóz anyagcseretérképek előállítása PET tracer kinetikai analízisével*, Konferenciapozster, Sejt- és Fejlődésbiológiai Napok, Debrecen, 1997. jan. Abstract Book 23
10. Ócsai H., **Lehel Sz.**: *PET vizsgálat jelentősége Melanoma malignumban*, Fiatal Bőrgyógyászok XIV. Fóruma, Kecskemét, 1997. április, Abstract Book 10
11. Szakáll S. Jr., Trón L., **Lehel Sz.**, Füzy M., Berényi E. and Ésik O.É: *Role of FDG PET in Detection of Lymph Node (LD) Metastases of Residual or Recurrent Medullary Thyroid Carcinoma (MTC)*, Conference Poster, **Radiotherapy and Oncology** 48(1998) suppl. 1. pS131
12. Weiss J., Emri M., **Lehel Sz.**, Lengyel Zs., Márián T., Fent J., Repa I., Trón L. és Ádám Gy., *Jobb féltekei agykérgi aktiváció szimmetrikus carotis-baroreceptor ingerlés nyomán*, Ötéves a Magyar PET Program, Tudományos Ülés, 1999, Debrecen
13. Márián T., **Lehel Sz.**, Balkay L., Boros I. Horváth G., Fekete I., Szentmiklósi J. és Trón L., *Adenozin-receptorok és PET-izotóppal jelölt ligandjaik kölcsönhatásának in vivo és in vitro vizsgálata*, Ötéves a Magyar PET Program, Tudományos Ülés, 1999, Debrecen
14. T. Márián, **Sz. Lehel**, L. Balkay, G. Horváth, Zs. Lengyel, P. Mikecz, A. J. Szentmiklósi and L. Trón: *Synthesis and evaluation of 5'-N-(2-[18F]Fluoroethyl)-carboxamidoadenosine, a F-18 labelled NECA analogue for Investigation of Adenosine Receptor System by PET*, Conference Poster, **Eur. J. Nucl. Med.** 27(8)(2000) 1223
15. Rubovszki B., Márián T., **Lehel Sz.**, Székely A., Krasznai Z.: *P1 típusú adenozin-receptor agonista NECA és fluorral jelölt származéka, a 19F-NECA hatása a DDT1 MF-2 sejtek káliumáramaira*, Konferenciapozster, XXXI. Membrán Transzport Konferencia, Sümeg, 2001. május, Abstract Book 71.

16. **Lehel Sz.**, Medazepam bomlásspecifikus folyadékkromatográfiás meghatározási módszerének kidolgozása, XXIII. Kémiai Előadói Napok, Szeged 2000. Abstract Book 112
17. Márián T., **Lehel Sz.**, Lengyel Zs., Balkay L., Horváth G., Mikecz P., Miklovicz T., Szentmiklósi A. J., Trón L.: Adenozin-receptorok in vivo ligandumkötésének PET vizsgálata [¹⁸F]-NECA-val, MONT XII. Kongresszusa, Gyula 2001. április, **Magyar Radiológia**(2001) Suppl. 1. 9