

Uptake és efflux transzporterekkel kölcsönható vegyületek azonosítása robotizált platformon

Doktori értekezés

Windt Tímea

Semmelweis Egyetem
Molekuláris Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Szakács Gergely, PhD, tudományos főmunkatárs

Hivatalos bírálók: Dr. Krajcsi Péter, DSc, tudományos munkatárs
Dr. Jemnitz Katalin, PhD, vezető kutató

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Réthelyi János, PhD egyetemi igazgató
Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Laki András, PhD, egyetemi adjunktus
Dr. Papp Gergő, PhD, tudományos munkatárs

Budapest
2021

1. Bevezetés

A sejtek intracelluláris, sejtszintű és szöveti szintű felosztása alapvető fontosságú az élő szervezetek működésének szempontjából. Komplex fizikai akadályrendszerük szabályozza a xenobiotikumok és az endogén molekulák szöveti és sejtes expozícióját. A biológiai membránokon keresztüli áteresztőképességet a membránban található efflux (pl. ABCB1 és ABCG2) és uptake (pl. OATP2B1) funkciókat ellátó transzporterek határozzák meg.

A fejlett országokban a kardiovaszkuláris megbetegedések után a daganatos megbetegedések szerepelnek a vezető halálozási okok közt. A rákos betegségek hatékony kemoterápiás kezelésének egyik legfőbb akadálya a sejtek számos, különböző kémiai szerkezetű és hatásmechanizmusú vegyület toxicitásával szemben kialakuló ellenállóképessége (MDR). A kemoterápiás kezelésnek ellenálló tumorsejtek többféle mechanizmus segítségével biztosíthatják túlélésüket, melyek közül az egyik legismertebb az intracelluláris gyógyszerkoncentráció csökkentése különböző efflux pumpák fokozott expressziója által, ami a koncentráció toxikus szint alatt tartásával biztosítja a sejt túlélését. Egyre több bizonyíték jelzi az OATP-k tumoros megbetegedésében való szerepét is, emelkedett expressziójuk egyes tumorokban újfajta terápiás lehetőségeket vet fel. A gyógyszerkutatás és gyógyszerfejlesztés során gyógyszer – transzporter kölcsönhatások tesztelése a preklinikai fázis döntő lépése.

A doktori munkám során a gyógyszerek farmakológiai tulajdonságainak vizsgálatára egy robotizált rendszer kialakítását tűztük ki célul. A kialakított szűrőrendszer segítségével jellemeztük az NCI DTP Onkológiai készlet IV vegyület könyvtárat és azonosítottuk azokat a molekulákat, amelyek eltérő toxicitást mutattak ABCB1, ABCG2 és OATP2B1 transzporter overexpresszált sejtvonalakban. A doktori munkám második részében egy kollaboráció keretében bizonyítottuk, hogy a COX-2 gátlószer celecoxib doxorubicinnel kombinálva képes az MDR *in vitro* kialakulásának megelőzésére. Automatizált kombinációs esszé segítségével kimutattuk, hogy a celecoxib Pgp indukció gátló hatása nem a két vegyület szinerg toxicitásán alapul.

2. Célkitűzés

Doktori munkám célja egy HTS kompatibilis, *in vitro* módszer kidolgozása volt, amely lehetőséget ad vegyületkönyvtárak és az ABCB1, ABCG2, OATP transzporterek kölcsönhatásának vizsgálatára. Az esszé segítségével onkológiai relevanciájú vegyületeket kívántunk vizsgálni egyedi, valamint kombinációs kölcsönhatási vizsgálatokkal.

A következő feladatokat tűztük ki:

1. HTS szűrés teljesítményének növelése érdekében kokultúrában alkalmazható, fluoreszcens fehérjék expresszióján alapuló HTS-kompatibilis esszé kialakítása efflux és uptake transzporterekkel való kölcsönhatás vizsgálatára
 - OATP2B1 uptake transzporterrel való kölcsönhatás vizsgálata parentális és OATP2B1 uptake transzportert expresszáló kokultúra modellel
 - ABCB1, ABCG2 efflux transzporterrel való kölcsönhatás vizsgálata parentális, ABCB1 és ABCG2 transzportereket expresszáló hármas kokultúra modellel
2. A kialakított szűrőrendszer segítségével az NCI DTP Onkológiai készlet IV tesztelése ABCB1, ABCG2 és OATP2B1 transzporterekkel való kölcsönhatás vizsgálatára
3. A kialakított esszével nyert eredmények validálása másodlagos tesztekkel
4. A rezisztencia kialakulásának megakadályozására irányuló stratégia vizsgálatára az ABCB1 expresszióját gátló celecoxib jellemzése kombinációs kölcsönhatás analízis segítségével

3. Anyagok és módszerek

Felhasznált vegyületek: Az NCI/DTP által összeválogatott Onkológiai készlet IV, az FDA által jóváhagyott rákellenes hatással rendelkező 101 tagból álló könyvtárát 96 lyukú lemezen, 10 mM-os koncentrációban DMSO-ban oldva szereztük be. A szűrés során kijött potenciális “hit” vegyületeket a megerősítő tesztekhez más gyártótól rendeltük újra: metotrexátot (NSC-740), tenipozidot (NSC-122819) és tioplexet (NSC-6396) a Mercktől; irinotecant (NSC-616348), kapecitabint (NSC-712807), bleomicint (NSC-125066), docetaxelt (NSC-628503) és carfilzomibot (NSC-758252) a SelleckChemtől; karboplatin (NSC- 241240) az Accord Healthcare-től; Etopozidot (NSC-141540) a TEVA-tól; míg az ösztron-3-szulfát és Cascade Blue a ThermoFisher Scientific cégtől származtak.

A szinergia kísérletekhez használt doxorubicint, celecoxibot és firocoxibot a Sigma- Aldrich-től; a trichosztatin-A-t és a SAHA vegyületet a Tocris Bioscience-től vásároltuk. A meloxicam-ot a Ceva Animal Health-től szereztük be.

Sejtvonalak és tenyésztésük: A szűrés során rákos és immortalizált sejtek parentális és MDR fenotípusait használtuk. Az A431 humán epidermoid karcinóma sejtvonalat és Mes-Sa humán méhszarkóma sejtvonalat az ATCC-től vásároltuk. A szinergia vizsgálatokhoz használt P388 egér leukémia sejtvonalat az NCI DTP sejtgűjteményéből (National Institutes of Health), a CLBL-1 kutya diffúz nagy B-sejtes lymphomasejteket Dr. Rütgen Barbarától (University of Veterinary Medicine, Bécs) kaptuk. A parentális Mes-Sa sejtvonalból Mes-Sa/Dx5 nagy mennyiségű ABCB1 fehérjét kifejező tumorsejtvonalat folytonos doxorubicin szelekcióval hozták létre, az ABCB1, illetve ABCG2 transzportereket overexpresszáló epidermoid karcinóma és uterin szarkóma sejtvonalakat retrovirális transzdukcióval, míg az OATP2B1-et overexpresszáló A431 sejtvonal transzpozon alapú génbeviteli rendszer segítségével készülték. A transzdukció után a sejteket áramlási citométerrel (Becton Dickinson Biosciences, San Jose, CA, USA) transzporter funkcióra, továbbá OATP2B1 esetén CD4 protein expresszióra szortoltuk. A parentális, OATP2B1, ABCG2 és ABCB1 overexpresszáló sejtvonalakba ezek után lentivirális transzdukcióval kerültek a fluoreszcens proteint kifejező pRRL-EF1-mCherry, -mOrange, illetve az -eGFP

expressziós plazmidok. A szelekcióval létrehozott Mes-Sa/Dx5 sejteket a stabil és homogén ABCB1 overexpresszió biztosítására 500 nM doxorubicinben tenyésztettük, a kísérletek megkezdése előtt egy héttel a sejteket drogmentes médiumba helyeztük át. A Mes-Sa, Mes-Sa/Dx5, Mes-Sa-B1, A431, A431-B1, A431-G2 sejteket DMEM-ben (Dulbecco's Modified Eagle's Medium, SigmaAldrich, 52100047), P388, CLBL-1 sejteket RPMI (Roswell Park Memorial Institute) médiumban (Life Technologies, Carlsbad, CA, USA) tenyésztettük, 37°C-on, 5% CO₂ tartalom mellett. A tápoldatok 10% szérumot (FBS, fetal bovine serum), 5 mM L-glutamint és 50 unit/ml penicillin/streptomycin (Life Technologies) antibiotikum keverékkel egészítettük ki. A sejtvonalakat rendszeresen teszteltük mycoplasma fertőzésre, folyamatosan vizsgáltuk az ABCB1 és ABCG2 transzporter expressziót mitoxantronnal, tariquidar inhibitor hiányában és jelenlétében, illetve az OATP2B1 expressziót Cascade Blue (CB) felvétellel öszton-3-szulfát inhibitor hiányában és jelenlétében.

Fluoreszcens fehérje expresszióján alapú és reagens alapú citotoxicitási esszé:

A citotoxicitási tesztek automatizálása Hamilton STARlet automata folyadékkezelő robot (Hamilton Robotics STARlet) segítségével valósult meg. A sejtek kiültetése 384 lyukú lemezeken történt, monokultúrában 2500 sejt, kettes kokultúra esetén sejtvonalanként 1250 sejt, míg hármas kokultúra esetén sejtvonalanként 625 sejt került egy well-be. A tesztelni kívánt vegyületek 24 óra elteltével, 37 °C-on és 5% CO₂ koncentráció mellett történő inkubációt követően kerültek rá a sejtekre. A szűrés során 6 koncentrációpontban, harmadoló hígításban kerültek a sejtekre a vegyületek, elérve a 60 µl/well végtérfogatot, a DMSO koncentráció a sejteken nem haladta meg az 1%-ot. 6 fluoreszcens vegyületet (valrubicin, doxorubicin, daunomycin, mitoxantrone, mithramycin, dactinomycin) kizártunk a vizsgálatból, belső saját (belső) fluoreszcenciájuk miatt. A citotoxikus hatást 96 és 144 óra elteltével mértük mikrolemez-olvasóval (eGFP: 485_{ex} /510_{em}; mCherry: 585_{ex} /610_{em}; mOrange: 545_{ex} /567_{em}). A megerősítő tesztek során 9 koncentrációpont segítségével vettük fel a dózis-hatás görbéket, a vegyület citotoxicitásához igazított hígítási lépcsővel.

HTS-kompatibilis in vitro szűrési platform: A tesztek 384-es lemezeken történő automatizálása Hamilton STARlet automata folyadékkezelő robot segítségével valósult meg. A rendszer során a sejtek kiültetése és a vegyületek kiosztása is automatizált. Az

automatizált folyadékkezelés programozása Venus2 szoftveren keresztül történt. A fluoreszcencia alapú kokultúrás esszé mérése a platformhoz integrált Perkin Elmer mikroplate readerrel, kiértékelése Sessler Judit által C# nyelven írt program segítségével történt. A vegyületeket mindhárom kokultúrás modellben minimum kétszer, egymástól függetlenül teszteltük.

Vegyületkölcsonhatás automatizált vizsgálata: A mono- és kombinált kezelések citotoxicitásának vizsgálatára egy nappal a vegyületek hozzáadása előtt a sejteket 384-es lemezre ültettük ki, 20 µl tápközegben. A P388 sejtből 2500, CLBL-1 esetén 100 000 sejt került egy well-be. 24 óra inkubáció elteltével további 20-20 µl térfogatban hozzáadtuk a 2 vegyületet a megfelelő koncentrációtartományban, elérve a 60 µl/well végtérfogatot. A teljesen automatizált pipettázási lépéseket Hamilton STARlet folyadékkezelő munkaállomás segítségével hajtottuk végre. A lemezeket 120 órán át inkubáltuk 37 °C-on, 5% páratartalom mellett, majd az IC₅₀ értékek meghatározásához PrestoBlue® assayt (ThermoFisher) használtunk, a gyártó utasításai szerint. A sejtek életképességét spektrofotometriásan, EnSpire mikrotiter lemezolvasóval mértük (Perkin Elmer, Waltham, MA, USA). Az adatokat normalizáltuk a negatív (kezeletlen, élő sejtek) és a pozitív (halott sejtek) kontrollokra. A kombinációk vizsgálatánál az „1. vegyület” IC₅₀-értékeinek változását vizsgáltuk a „2. vegyület” fix koncentrációja mellett (és fordítva). A kapott IC₅₀ értékeket izobologramon ábráztuk, minden adatpontra kombinációs index értéket számítottunk. Ennek megfelelően a kapott hatást szinergistának ($CI \leq 0.7$); mérsékelten szinergistának ($0.7 < CI \leq 0.85$), additívnek ($0.85 < CI \leq 1.2$), mérsékelten antagonistának ($1.2 < CI \leq 1.45$) vagy antagonistának ($CI > 1.45$) határoztuk meg.

NCI DTP in silico screening: Az *in silico* szűrés során az NCI DTP Onkológiai készlet IV vegyületkönyvtárában található 101 molekulára fókuszáltunk. Az NCI-60 tumorsejtpanel ABCB1 mRNS expressziós mintázatát korreláltattuk a vegyületekkel szemben mutatott citotoxicitási aktivitási mintázattal, hogy MDR-szelektív molekulajelölteket, illetve ABCB1 szubsztrátokat azonosítsunk. A vegyületek citotoxicitási profilját a DTP nyilvános adatbázisából töltöttük le (2016 december). A Pearson-korrelációs koefficienseket (PCC) Szakács és mtsai által leírt analízis szerint számoltuk, PCC < -0,4 feltételezett szubsztrát molekulákat jelöl.

Kombinációs kölcsönhatás analízise Chou Talalay CI-módszer segítségével:

A kombinációs index módszer Chou és Talalay, valamint Chou és Martin számítógépes szoftverén alapul, ahol $CI < 1$, $CI = 1$, illetve $CI > 1$ jelzi a szinergista, additív, illetve antagonista hatást. A kölcsönhatás finomítása a CI értékek intervallumokba sorolásával történt. A kombinációs index analízisben szereplő intervallumok alapján a pontok nagysága mutatja a kölcsönhatás erősségét: enyhén, mérsékeltén vagy erős antagonista/szinergista hatást kifejezve.

Mikrolemez-alapú uptake esszé: 7×10^4 OATP2B1-et expresszáló A431 sejtet osztottunk ki 96 lyukú lemezekre 200 μ l végtérfogat/well-ben és inkubáltuk 16–24 órán át 37 °C-on, 5% CO₂-tartalom mellett. A konfluencia elérése után a felülúszót eltávolítottuk, majd a sejteket háromszor mostuk 200 μ l/well foszfátpufferelt sóoldattal (PBS). Ezt követően a sejteket a vegyületek jelenlétében 5 percig 37 °C-on előinkubáltuk. Az oldószer mennyiségét 0,5% alatt tartottuk a vizsgálat során, a fluoreszcens festékek interferenciájának elkerülése érdekében. 50 μ l Cascade Blue fluoreszcens festék hozzáadása után (elérve a 10 μ M végkoncentrációt 100 μ l végtérfogatban) a lemezt 30 percig inkubáltuk 37 °C-on. A reakciót 200 μ l/well jéghideg PBS hozzáadásával állítottuk le, majd a felülúszó eltávolítása után a sejteket háromszor mostuk 200 μ l/well jéghideg PBS-sel. Végül 200 μ l/well PBS hozzáadása után a fluoreszcenciát Enspire lemezolvasóval (Perkin Elmer) szobahőmérsékleten mértük 401_{ex}/419_{em} hullámhosszon.

CascadeBlue uptake meghatározása áramlási citométer segítségével: Az A431 sejteket tripszinezés (0,1% tripszin) után összegyűjtöttük és kétszer mostuk uptake pufferrel (125 mM NaCl, 4.8 mM KCl, 1.2 mM CaCl₂, 1.2 mM KH₂PO₄, 12 mM MgSO₄, 25 mM MES és 5.6 mM glükóz; a Ph-t 10 N NaOH / 1 M HEPES alkalmazásával 5.5-re állítottuk be). 5×10^5 sejtet ösztro-3-szulfát jelenlétében, illetve anélkül 37 °C-on előinkubáltuk, majd a 100 μ l végtérfogathoz hozzáadtunk 5 μ M Cascade Blue festéket 30 percig. A reakciót 1 ml jéghideg PBS hozzáadásával állítottuk le. A sejteket jégen tartottuk az áramlási citométerrel történő mérésig. A sejtek fluoreszcenciája minimum 20 000 élő sejt leszámolásával lett meghatározva, Attune Acoustic Focusing Cytometer (Applied Biosystems, Life Technologies, Carlsbad, CA, US) segítségével.

4. Eredmények

4.1. Fluoreszcens transzportert expresszáló és parentális sejtpárok kialakítása HTS toxicitási kísérletekhez, a kokultúra-modell Prestoblue reagenssel történő validációja

A transzporterekkel való kölcsönhatás vizsgálatához létrehoztunk egy automatizált, hatékony és robusztus sejtproliferáció gátlást mérő HTS-kompatibilis szűrő platformot, amely alkalmas a tesztelt vegyületek efflux és uptake transzporterekkel való citotoxikus kölcsönhatásának vizsgálatára. Célunk olyan gyógyszerjelölt molekulák azonosítása volt, amelyek alkalmasak lehetnek a hagyományos kemoterápiás szerekkel szemben ellenálló tumorok kezelésére. A molekulakönyvtárak HTS szűréséhez először adaptáltunk egy HTS-kompatibilis fluoreszcencia-alapú sejtproliferáció gátlást mérő *in vitro* esszét. A transzportereket kifejező sejtvonalak különböző fluoreszcens proteineket expresszálnak, melyek szelektíven detektálhatók. A szűrés során A431 humán epidermoid karcinóma sejtvonal MDR efflux (ABCB1 és ABCG2), illetve uptake (OATP2B1) transzportert expresszáló variánsait, illetve humán Mes-Sa uterin szarkóma sejtvonal ABCB1 transzportert expresszáló Mes-Sa-B1, illetve doxorubicin rezisztens változatát (Mes-Sa/DX5) jellemeztük.

4.2. NCI DTP Onkológiai készlet vegyületkönyvtár jellemzése ABCB1 és ABCG2 transzporterrel való kölcsönhatás feltérképezésére, *in silico* összehasonlítás

A kialakított rendszer segítségével az Amerikai Nemzeti Rákkutató Intézet Developmental Therapeutics Program (NCI/DTP) által összeválogatott Onkológiai készlet 101 vegyületét teszteltük. Az ABCB1 transzportert overexpresszáló sejten mért eredmények megerősítették, hogy a parentális mellett ABCB1 és ABCG2 transzportert expresszáló sejtvonalakat tartalmazó kokultúra modellel Pgp szubsztrátok azonosíthatók. Az Onkológiai készletben található vegyületek az NCI60 sejtpanelen is le lettek mérve. Az NCI-60 tumorsejtpanel 60 sejtvonalának ABCB1 mRNS expressziója és a 60 sejtvonalon mért egyes vegyületek sejtvonalakra gyakorolt citotoxikus hatásának (pGI₅₀) értékével jellemzett drogérzékenysége közt korrelációs analízist végeztünk az Onkológiai készletben található 101 vegyület esetén. Pearson korrelációs koefficiens (PCC) számoltunk a letölthető adatbázisban szereplő toxicitási adatokból. Mind a Mes-Sa (Mes-

Sa mCh, Mes-Sa/Dx5 eGFP, Mes-Sa-B1 mOr), mind az A431 hármaskultúrán (A431 eGFP, A431-B1 mCh, A431-G2 mOr) mért tesztek során az összes azonosított Pgp szubsztrát negatív Pearson-korrelációs együtthatóval jellemezhető ($PCC < -0,4$), ezzel is jelezve, hogy a fluoreszcencia-alapú kokultúra modellen történő citotoxicitási szűrés összehasonlítható az NCI-60 tumorsejtpanelen történő *in silico* szűréssel. Ráadásul az *in silico* predikció számos ismert Pgp-szubsztrátra fals eredményt adott (például a vinkrisztin, dasatinib, docetaxel, ixabepilon, kabazitaxel, tenipozid, etopozid), amelyeket mind a Mes-Sa, mind az A431 modellen sikeresen azonosítottunk.

4.3. OATP2B1 uptake transzporterrel való kölcsönhatás azonosítására alkalmas HTS rendszer létrehozása

Az ABCB1 és ABCG2 efflux transzportereket expresszáló kokultúra alapú kísérletek megmutatták, hogy a fluoreszcencia-alapú rendszerrel citotoxikus ABCB1 és ABCG2 transzporterrel való kölcsönhatás kimutatható. Annak érdekében, hogy megvizsgáljuk az Onkológiai készletben található vegyületek OATP2B1 uptake transzporterrel való kölcsönhatását, létrehoztunk egy OATP2B1 transzportert expresszáló sejtvonalat tartalmazó kokultúrát. Az NCI DTP Onkológiai készlet IV-ben 13 kemoterápiás kezelésben használt vegyületet azonosítottunk, amelynek toxicitása az OATP2B1 transzportert overexpresszáló sejteket érzékenyítette a parentális sejtvonallal szemben. Az OATP2B1 transzporterrel való interakció bizonyítására a sejtek Cascade Blue felvételét vizsgáltuk a vegyületek jelenlétében. A vizsgált vegyületek gátolták a CB felvételt, a szűrés során azonosított OATP2B1-szubsztrát jelölt vegyületek interakcióba léptek az OATP2B1 transzporterrel. A metotrexáton és etopozidon kívül a többi vegyület esetében az OATP2B1 transzporterrel való kölcsönhatásról eddig nem számoltak be. Nagyáterestőképességű szűrés során igazoltuk, hogy az OATP2B1 transzporter jelenléte érzékenyíti a sejteket egyes kemoterápiás szerekkel szemben.

4.4. Vegyületkombináció vizsgálata: COX-2 gátlószer vizsgálata a rezisztencia kialakulásának megakadályozására

Doktori munkám második felében egy kollaboráció keretén belül vizsgáltuk, hogy *in vitro* modellezhető rezisztencia indukciót meg lehet-e előzni COX-2 gátlókkal történő kombinációs kezeléssel. A doxorubicin kezelés által indukált Pgp kifejeződésének

megakadályozására a COX-2 gátlószer celecoxib hatását vizsgáltuk kombinációs kísérletben P388 egér és CLBL-1 kutya lymphoma sejtvonalon. A doxorubicin és celecoxib együttes kombinációjánál antagonista hatás figyelhető meg CLBL-1 és P388 sejtvonalon. Az eredményekből kiderül, hogy az együttes hatásvizsgálat során a doxorubicin toxicitását nem növelte a celecoxib. Bizonyítottuk, hogy a COX-2 gátlószer celecoxib doxorubicinnel kombinálva képes az MDR *in vitro* kialakulásának megelőzésére, és megállapítottuk, hogy a hatást nem a doxorubicin toxicitásának növelésével éri el.

5. Következtetések

1. Létrehoztunk egy kokultúrában alkalmazható, fluoreszcencia alapú, efflux és uptake transzporterekkel való kölcsönhatás vizsgálatára alkalmas HTS-kompatibilis esszét.
2. A kialakított szűrőrendszer segítségével elvégeztük az NCI DTP *Onkológiai készlet IV* vegyületkönyvtár jellemzését, és azonosítottuk azokat a molekulákat, amelyek eltérő toxicitást mutattak ABCB1, ABCG2 és OATP2B1 transzportert overexpresszáló sejtvonalakban.
3. Másodlagos tesztek során igazoltuk az azonosított molekulák transzporterekkel való kölcsönhatását.
4. A szűrési platform segítségével új, az OATP2B1 transzporterrel kölcsönható vegyületeket fedeztünk fel.
5. Kimutattuk, hogy a COX-2 gátlószer celecoxib doxorubicinnel kombinálva képes az MDR *in vitro* kialakulásának megelőzésére. Robotizált kombinációs esszé segítségével bebizonyítottuk, hogy a celecoxib Pgp indukció gátló hatása nem a két vegyület szinerg toxicitásán alapul.

6. Saját publikációk jegyzéke

a. Dolgozat részét képező publikációk

Tímea Windt, Szilárd Tóth, Izabel Patik, Judit Sessler, Nóra Kucsma, Áron Szepesi, Barbara Zdrasil, Csilla Özvegy-Laczka, Gergely Szakács: Identification of anticancer OATP2B1 substrates by an in vitro triple-fluorescence-based cytotoxicity screen. *Archives of Toxicology*, 2019 March, **93**: 953–964

Edina Karai, Kornélia Szabó, **Tímea Windt**, Sára Fehér, Eszter Szendi, Valéria Dékay, Péter Vajdovich, Gergely Szakács and András Füredi: Celecoxib Prevents Doxorubicin-Induced Multidrug Resistance in Canine and Mouse Lymphoma Cell Lines. *Cancers*, 2020 May, 12(5): 1117.

b. Dolgozat részét nem képező publikációk

Zita Rádai, **Tímea Windt**, Veronika Nagy, András Füredi, Nóra Zsuzsa Kiss, Ivan Randelović, József Tóvári, György Keglevich, Gergely Szakács, Szilárd Tóth: Synthesis and anticancer cytotoxicity with structural context of an α -hydroxyphosphonate based compound library derived from substituted benzaldehydes.

New Journal of Chemistry, 2019 Jan, 43: 14028-14035

Zita Rádai, Petra Szeles, Nóra Zsuzsa Kiss, László Hegedűs, **Tímea Windt**, Veronika Nagy, György Keglevich: Green synthesis and cytotoxic activity of dibenzyl alfa-hydroxyphosphonates and alfa-hydroxyphosphonic acids.

Heteroatom Chemistry, 2018 July, 29: (4) e21436

Daniella Takács, Ákos Csonka, Ádám Horváth, **Tímea Windt**, Márió Gajdács, Zsuzsanna Riedl, György Hajós, Leonard Amaral, József Molnár, Gabriella Spengler: Reversal of ABCB1-related Multidrug Resistance of Colonic Adenocarcinoma Cells by Phenothiazines.

Anticancer Research, 2015 June, 35: (6) 3245-3251