

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

ПРОНИКНОВЕНИЕ В ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ ФОТО-СЕНСИБИЛИЗАТОРА ХЛОРИНА e6 В СОСТАВЕ ФОСФОЛИПИДНЫХ НАНОЧАСТИЦ ПРИ КОНЬЮГАЦИИ С ГЕКСАПЕПТИДОМ, СОДЕРЖАЩИМ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ NGR

В.Н. Прозоровский¹, Л.В. Кострюкова¹, Е.И. Короткевич¹, Т.И. Торховская^{1,2*}, Г.Е. Морозевич¹, Е.Г. Тихонова¹, О.М. Ипатова¹

¹Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича, 119221, Москва, ул. Погодинская 10; *эл. почта: torti@mail.ru

²Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины, 119221, Москва, ул. М. Пироговская 1а

Исследована возможность повышения проникновения в опухолевые клетки фотосенсибилизатора хлорина e6 путём включения его в наночастицы с размером 20-40 нм из соевого фосфатидилхолина с добавлением пептида, содержащего мотив Asn-Gly-Arg (NGR), аффинный к повышенно экспрессирующемуся на клетках ряда опухолей и опухолевых сосудов белку аминопептидазе N (APN, CD13). Хлорин e6 встраивали в наночастицы, приготовленные с добавлением дистеароилфосфатидилэтаноламина (DSPE), конъюгированного через ПЭГ с гексапептидом, включающим последовательность NGR. Полученную композицию инкубировали с опухолевыми клетками HerG2 и MCF-7. Для CD13-отрицательных клеток MCF-7 накопление хлорина e6 не зависело от присутствия пептида в наночастицах, в то время как для клеток HerG2 наблюдалось двукратное повышение интернализации хлорина e6 по сравнению с инкубацией с такими же наночастицами без NGR. Различия ответа этих двух клеточных линий, отличающихся по экспрессии APN, подтверждают возможность использования этого белка в качестве мишени для направленной доставки. Обсуждается перспективность использования в фотодинамической терапии фосфолипидных наночастиц с присоединённым содержащим NGR адресным пептидом с учётом возможных вариаций экспрессии APN, свойственной многим солидным опухолям.

Ключевые слова: хлорин e6; фосфолипидные наночастицы; HerG; MCF-7; аминопептидаза N; NGR

DOI: 10.18097/BMCRM00063

ВВЕДЕНИЕ

Среди различных методов противоопухолевой терапии всё большее место занимает относительно недавно вошедший в практику, но уже зарекомендовавший себя способ лечения некоторых видов рака, в основном солидных (локализованных) опухолей – фотодинамическая терапия. Он активно развивается во многих странах мира с конца семидесятых годов, и недавно исполнилось десять лет клинического применения этого метода в России. Метод основан на предварительном введении в организм специальных веществ – фотосенсибилизаторов (ФС), обладающих способностью под действием света вступать в фотохимические реакции с кислородом, приводящие к образованию цитотоксических агентов (прежде всего активных форм кислорода), повреждающих структурные элементы опухоли [1].

В фотодинамической терапии применяют в основном фотосенсибилизаторы из группы порфиринов, для которых еще в двадцатые годы было показано преимущественное сродство к раковым клеткам. Это обеспечивает их накопление в ткани опухоли, позволяющее индуцировать повреждающий эффект при последующем локальном облучении. Развитие фотодинамической терапии сопровождалось совершенствованием используемых для неё ФС, и в настоящее время используют в основном хлорин e6 (2,3-дигидропорфирин), основное преимущество которого заключается в том, что он активируется светом длинноволновой области спектра, который глубже проникает в ткани [2]. В клинической практике используют, в частности, такие его препараты как Радахлорин (“Рада-Фарма”, Россия) и Фотодитазин (“Вета-Гранд”, Россия). В то же время хлорин e6 обладает и рядом недостатков: низкой водорастворимостью, а также длительной фототоксичностью, обусловленной его поступлением и удерживанием не только в опухолях, но и в здоровых тканях [2].

Для улучшения эффективности использования хлорина e6 его включали в различные транспортные системы на основе частиц наноразмера – липосомы, дендримеры, полимерные наночастицы. Было показано, что инкапсуляция

хлорина e6 в липосомы облегчает его введение *in vivo* и улучшает его фототоксичность и фармакокинетический профиль [2]. Использовались также специфические подходы для повышения проникновения наночастиц с присоединённым хлорином e6 в опухолевые ткани и клетки. Для этой цели к наночастицам присоединяли вещества – чаще пептиды, обладающие аффинностью к опухолевым клеткам или повышенной способностью к проникновению внутрь клетки (интернализации). Так, композиции хлорина e6 в наночастицах из дендримеров [3] или содержащих ПЭГ полимеров [4] с пептидом RGD (Arg-Gly-Asp), проявляющим сродство к интегриновым рецепторам ряда опухолей, повышали доставку фотосенсибилизатора в опухолевые клетки. Повышение цитотоксичности хлорина по отношению к опухолевым клеткам было также достигнуто путём присоединения к содержащим его липосомам фолата за счёт аффинности к фолатным рецепторам, повышенная экспрессия которых обнаружена в ряде опухолей. Сообщается о придании “адресности” хлорина e6 к опухолевым клеткам путём его непосредственной конъюгации с моноклональными антителами, избирательно взаимодействующими с внеклеточным доменом рецептора 2 эпидермального фактора роста человека (HER2), экспрессирующимся на клетках рака молочной железы [6].

Во многих работах исследовали эффективность ряда других, позже выявленных аффинных к опухолям пептидов (*tumor homing peptides*), хотя об их использовании по отношению к хлорину e6 не сообщается. Эти исследования были направлены на повышение доставки в опухолевые клетки других противоопухолевых лекарств, включавшихся в различные наночастицы [7-9]. Наибольшее внимание уделялось пептидам, содержащим последовательность трёх аминокислот – Asn-Gly-Arg (NGR). Для этого трипептида была выявлена аффинность к клеткам ряда опухолей и опухолевых сосудов за счёт способности связываться с экспрессирующимся на них белком аминопептидазой N (APN, также называемой CD13) [8].

При присоединении пептида NGR к липосомам с включёнными цитостатиками – доксорубицином, паклитакселем и другими – наблюдалось существенное



повышение накопления лекарства в опухоли и его эффективности по сравнению с “безадресными” липосомами [9]. При этом оказывал влияние и состав фосфолипидов липосом с NGR: наибольший эффект был показан для липосом из смеси соевого и гидрогенизированного соевого фосфатидилхолинов [9]. Результаты этих работ свидетельствуют о возможной перспективности данного подхода, с использованием пептида NGR, для повышения доставки в опухолевые клетки также и хлорина еб при включении его в липосомы или другие наночастицы.

Нами ранее было проведено включение хлорина еб в ультрамалые фосфолипидные наночастицы диаметром до 30 нм из соевого фосфатидилхолина, приводящее к снижению фототоксичности этого ФС вследствие ускоренного выведения из органов [10], а также исследована возможность повышения его проникновения в клетки HepG2 при добавлении гептааргина (R7). Целью настоящей работы было введение в такую систему пептида NGR в качестве адресного лиганда и исследование его влияния на проникновение хлорина еб в опухолевые клеточные линии HepG2 и MCF-7.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для получения фосфолипидных наночастиц с встроенным хлорином еб использовали соевый фосфатидилхолин (Lipoid S100, “Lipoid”, США), хлорин еб – N-метилглюкаминую соль (Ивановский институт), гептаргинин R7 (ИБМХ, Москва). Для получения таких же наночастиц с адресным трипептидом NGR использовали гексапептид, содержащий эту последовательность – (NH₂-)Gly-Asn-Gly-Arg-Gly-Cys(-COOH) (“СинтонЛаб”, Санкт-Петербург) и – для его присоединения – фосфолипид дистеароилфосфатидилэтанолламин (DSPE), конъюгированный с ПЭГ2000 и малеимидом – DSPE-PEG₂₀₀₀-Mal (“Avanti”, США),

Конъюгат DSPE-PEG₂₀₀₀-NGR получали согласно методике, описанной в работе [11], с небольшой модификацией, используя соотношение DSPE-PEG₂₀₀₀-Mal:NGR 4,3:1. Пептид, содержащий NGR, растворяли в дистиллированной воде, барботировали азотом. Затем добавляли DSPE-PEG₂₀₀₀-Mal, повторно барботировали азотом и инкубировали 24 ч при комнатной температуре, разливали по флаконам и лиофилизировали с использованием сушки Virtis Advantage XL (“SP Scientific”, USA); лиофилизат хранили при температуре -20°C.

Для получения композиции фосфолипида Lipoid S100 (“Lipoid”) с конъюгатом DSPE-PEG₂₀₀₀-NGR – основы для приготовления наночастиц – оба фосфолипидных компонента растворяли в 96% этиловом спирте (“Медхимпром”, Россия), смешивали спиртовые растворы в соотношении Lipoid:DSPE-PEG₂₀₀₀-Mal, равном 10:1. После этого проводили отгонку спирта на роторном испарителе Heidolph Laborota 4003 (“Heidolph”, Германия) и полученную плёнку регидратировали дистиллированной водой.

Для получения фосфолипидных наночастиц с хлорином еб в образовавшуюся грубую водную эмульсию фосфолипидов (Lipoid S100 и DSPE-PEG₂₀₀₀-NGR, 10:1) добавляли N-метилглюкаминую соль хлорина еб в соотношении с Lipoid S100 (по хлорину еб) 1:10 и обрабатывали на ультразвуковом дезинтеграторе Bandelin Sonopuls (“Bandelin”, Германия) с использованием стержня KE72 в течение 6 мин при мощности 50%. Полученную ультратонкую эмульсию пропускали через фильтр 220 нм (“Merck Millipore”, США). “Контрольные” наночастицы без NGR готовили так же, используя только соевый фосфатидилхолин (Lipoid S100), как описано ранее [10]. Встраивание хлорина еб в наночастицы, как было

показано ультрафильтрацией, достигало более 95%, размер частиц составлял 20-40 нм. В полученные водные эмульсии фосфолипидных наночастиц с хлорином еб, приготовленных или только из Lipoid S100, или из его смеси с DSPE-PEG₂₀₀₀-NGR, добавляли водный раствора гептааргина (R7) в весовом соотношении к хлорину еб 6:1 и встряхивали при скорости 2000 об/мин на шейкере IKA MS 3 basic (“IKA”, США). Процент R7, присоединённого к наночастицам, определяемый ультрафильтрацией после центрифугирования эмульсии при 10000 об/мин 20 мин при 25°C (Mini Spin plus, “Eppendorf”, Германия) в патроне Ultrafree-MC (“Millipore”, США), составлял 83%.

В экспериментах по проникновению в клетки включенного в фосфолипидные наночастицы хлорина еб использовали два вида клеток – гепатоцеллюлярной карциномы низкой степени злокачественности HepG2 и аденокарциномы молочной железы человека MCF-7, полученные из Американской коллекции типовых культур (ATCC) и поддерживаемые в коллекции клеточных культур ИБМХ. Клетки культивировали в среде DMEM (“ПанЭко”, Россия) с добавлением 10% фетальной бычьей сыворотки (FBS, “Gibco”, США), 2 мкМ глутамина, 100 ед/мл пеницилина и 100 мкг/мл стрептомицина (“Thermo Scientific”, США) при температуре 37°C в присутствии 5% CO₂. Перед проведением эксперимента клетки помещали в 6-луночные планшеты (по 1×10⁶ клеток на лунку) и инкубировали в среде в течение 24 ч, затем дважды отмывали, по 2 мл фосфатно-солевого буфера (PBS, “ПанЭко”).

После отмывки в лунки добавляли исследуемые образцы наночастиц с хлорином еб с добавлением и без добавления DSPE-PEG₂₀₀₀-NGR до концентраций 25 мкг/мл (по хлорину еб) в PBS, и инкубировали в течение 4 ч при двух температурах: при 37°C в CO₂-инкубаторе (“Sanyo”, Япония) и при 4°C (в холодильнике). После инкубации клетки трижды промывали, наливая по 2 мл холодного раствора (4°C) PBS.

Для определения содержания хлорина еб в клетках проводили его экстракцию раствором 0.1% муравьиной кислоты в метаноле (по 1 мл в лунку). Экстракты переносили в пробирки Eppendorf, центрифугировали при 10000 об/мин 10 мин при 4°C (Eppendorf 5810R, “Eppendorf”, Германия), после чего анализировали методом масс-спектрометрии, используя хроматографическую систему для ВЭЖХ Agilent 1200 Series с масс-спектрометрическим детектором 6130 Quadrupole LC/MS (“Agilent Technologies”, США). Содержание хлорина еб в клетках нормировали на уровень белка (мг), определяемого методом Лоури. Полное проникновение хлорина еб в клетку (интернализацию) рассчитывали по разности его содержания при 37°C (общее накопление в клетках) и при 4°C (ассоциация с клеточной поверхностью) [12]. Для каждого типа клеток эксперимент выполняли три раза, различия в поступлении в клетки хлорина еб для связанных и не связанных с NGR наночастицами считали статистически значимыми при p<0.05.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рисунке 1 показано накопление хлорина еб в клетках HepG2 при их инкубации с транспортирующими его фосфолипидными наночастицами, содержащими или не содержащими пептид NGR.

Как видно из рисунка 1, присоединение пептида NGR к фосфолипидным наночастицам, содержащим хлорин еб, заметно повышает как общее накопление этого ФС в данных клетках при 2-х-часовой инкубации, так и его интернализацию, при небольшом возрастании также и поверхностного связывания при 4°C [12].

Это может быть обусловлено экспрессией опухолевыми клетками белка аминоксипептидазы (CD13), за счёт афинности к которой адресного пептида NGR происходит присоединение и интернализация наночастиц с включённым хлорином е6 [7-9].

Результаты для линии опухолевых клеток MCF-7 существенно отличались (рис. 2).

Как видно из рисунка 2, общее накопление хлорина е6 в клетках, включая как его присоединение к клеточной поверхности, так и интернализацию, не отличалось в условиях инкубации с наночастицами с присоединённым NGR или без него. Другими словами, в отличие от клеток HepG2, клетки MCF-7 не реагировали на присутствие в инкубируемых с ними хлорин-содержащих наночастицах адресного пептида NGR. Анализ литературы показал, что это может быть обусловлено специфическими особенностями этих клеток: хотя они также являются опухолевыми, но их относят к CD13-отрицательному виду, то есть им не свойственна экспрессия аминоксипептидазы N [13]. Клетки MCF-7 рака молочной железы характеризуют как “слабо метастазирующие”, в отличие от “сильно метастазирующих” клеток той же локализации (MDA-MB-231) [14], экспрессирующих CD13 и присоединяющих NGR-содержащий пептид [15].

В настоящее время еще четко не выяснена связь клеточного типа опухоли с экспрессией CD13 (APN) и, соответственно, ответом (аффинностью) клетки на вводимый пептид NGR. На основании данных многих работ сложилось мнение, что это свойство сопряжено с опухолевым

фенотипом – активной пролиферацией, секрецией, инвазией и ангиогенезом. Показана высокая экспрессия APN на клетках многих опухолей – рака молочной железы, кишечника, желудка, яичников, почек, поджелудочной и щитовидной желез, что детально рассмотрено в обзоре [7]. Возможности использования APN как мишени для противоопухолевой терапии активно обсуждаются в литературе, проводятся клинические испытания, некоторые из которых дали положительные результаты [7, 8]. Выявленные в настоящей работе различия между ответом на взаимодействие с наночастицами с хлорином е6 двух клеточных линий (HepG2 и MCF-7), отличающихся по экспрессии APN [13], подтверждают значимость экспрессии этого белка, возможность использования его в качестве мишени для направленной доставки. Ранее сходные тенденции наблюдали для липосом с включёнными лекарствами, в основном, цитостатиками – во многих работах наблюдалось повышение доставки в клетки и противоопухолевой активности ряда лекарств при присоединении к транспортирующим их липосомам аффинного к APN (CD13) пептида NGR [7-9].

В этом отношении полученные нами данные на клетках HepG2, показавшие двукратное повышение интернализации хлорина е6, вводимого в составе фосфолипидных наночастиц при присоединении к ним NGR (рис. 1), свидетельствуют о перспективности такого подхода также и для фотодинамической терапии опухолей с использованием хлорина е6. Позитивному ответу на такое лечение может способствовать возможность предварительной

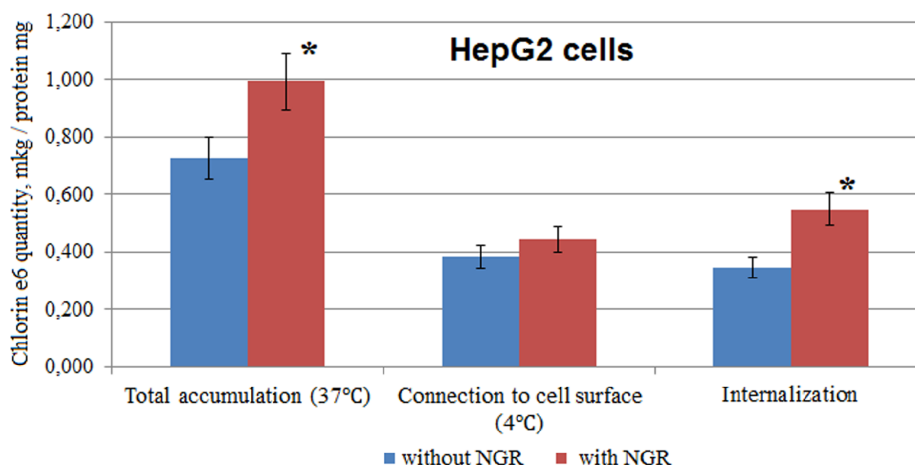


Рисунок 1. Влияние присоединения содержащего NGR пептида к фосфолипидным наночастицам с хлорином е6 на его поступление в клетки HepG2 после 2 ч инкубации. Without NGR – инкубация с фосфолипидными наночастицами, не содержащими пептида NGR. With NGR – инкубация с фосфолипидными наночастицами, содержащими DSPE-Peg₂₀₀₀-NGR. Звездочкой (*) указаны статистически значимые различия.

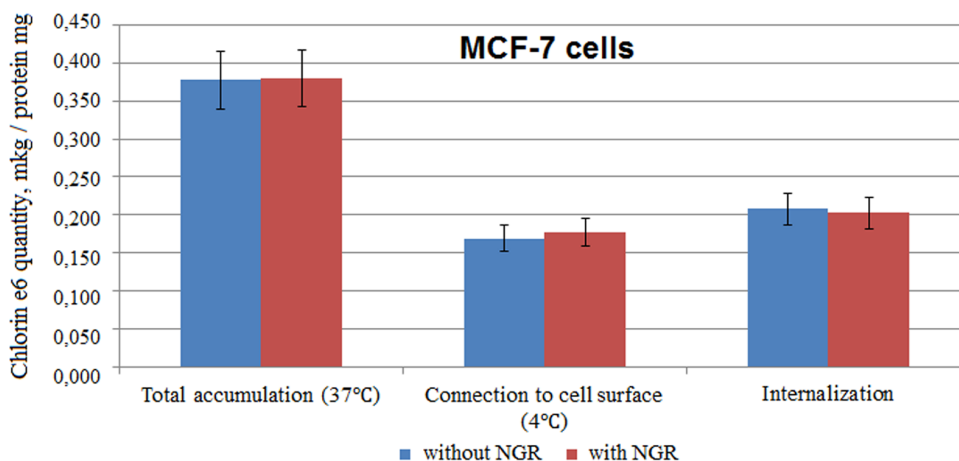


Рисунок 2. Влияние присоединения содержащего NGR пептида к фосфолипидным наночастицам с включенным хлорином е6 на его поступление в клетки MCF-7 после 2 ч инкубации. Обозначения как в рисунке 1.

гистохимической оценки экспрессии APN на конкретном виде опухоли [7], а также отмеченная многими авторами её повышенная экспрессия на сосудах опухоли в условиях свойственного опухолевому процессу усиленного ангиогенеза [8]. Следует также подчеркнуть, что это первая работа, показавшая результативность использования аффинного к опухолям пептида Asn-Gly-Arg (NGR) для повышения адресной доставки в опухолевые клетки хлорина e6, включенного в лекарственную транспортную систему. Полученные на опухолевых клетках HepG2 результаты в сочетании с показанным нами ранее снижением фототоксичности этого фотосенсибилизатора при включении его в фосфолипидные наночастицы [10] могут служить убедительным доводом в пользу перспективности такого подхода для оптимизации фотодинамической терапии солидных опухолей.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарят сотрудников лаборатории пептидной инженерии ИБМХ, руководимой проф. Е.Ф. Колесановой, за предоставление синтезированного ими гептааргинаина (R7). Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013-2020 годы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Krasnovskiy A.A. (2015) Singlet oxygen and primary mechanisms of photodynamic therapy. in: Fundamental Sciences for medicine (Eds. A.I. Grigoryev, Yu.A. Vladimirov) Max Press, Moscow, v. 1, p. 173-217.
2. Chan Thi Hai Yen, Ramenskaya G.V., Oborotova N.A. (2009) Photosensitizers of chlorine range in PhDT of tumors. Russian Journal of Biotherapy, 8(4), 99-104.
3. Yuan A., Yang B., Wu J., Hu Y., Ming X. (2015) Dendritic nanoconjugates of photosensitizer for targeted photodynamic therapy. Acta Biomater., 21, 63-73. DOI:10.1016/j.actbio.2015.04.014
4. Kim S.K., Lee J.M., Oh K.T., Lee E.S. (2017) Extremely small-sized globular poly(ethylene glycol)-cyclic RGD conjugates targeting integrin $\alpha_v\beta_3$ in tumor cells. Int. J. Pharm., 528(1-2), 1-7. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2017.05.068

5. Moret F., Scheglmann D., Reddi E. (2013) Folate-targeted PEGylated liposomes improve the selectivity of PDT with meta-tetra(hydroxyphenyl)chlorin (m-THPC). Photochem. Photobiol. Sci., 12(5), 823-834. DOI:10.1039/c3pp25384h
6. Kim K.S., Kim J., Kim D.H., Hwang H.S., Na K. (2018) Multifunctional trastuzumab-chlorin e6 conjugate for the treatment of HER2-positive human breast cancer. Biomater. Sci., 6(5), 1217-1226. DOI:10.1039/c7bm01084b
7. Wickstrom M., Larsson R., Nygren P., Gullbo J. (2011) Aminopeptidase N (CD13) as a target for cancer chemotherapy. Cancer Sci., 102, 501-508.
8. Schreiber C.L., Smith B.D. (2018) Molecular Imaging of Aminopeptidase N in Cancer and Angiogenesis. Contrast Media Mol. Imaging., 2018:5315172. DOI: 10.1155/2018/5315172.
9. Prozorovskiy V.N., Torkhovskaya T.I., Kostryukova L.V., Ipatova O.M. (2018) Specific peptides usage for targeted delivery of nanoparticles with antitumor drugs. Russian Journal of Biopharmaceutical, 10(4), 3-18.
10. Kostryukova L.V., Prozorovskiy V.N., Medvedeva N.V., Ipatova O.M. (2018) Comparison of a new nanoform of the photosensitizer chlorin e6, based on plant phospholipids, with its free form FEBS Open Bio., 8(2), 201-210. DOI: 10.1002/2211-5463.12359
11. Yang Y., Yang Y., Xie X., Cai X., Zhang H., Gong W., Wang Z., Mei X. (2014) PEGylated liposomes with NGR ligand and heat-activable cell-penetrating peptide-doxorubicin conjugate for tumor-specific therapy. Biomaterials, 35(14), 4368-4381. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2014.01.076
12. Sheldon K., Liu D., Ferguson J., Gariépy J. (1995) Lologomers: design of *de novo* peptide-based intracellular vehicles. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 92(6), 2056-2060. DOI: 10.1073/pnas.92.6.2056
13. Hou L., Zhao X., Wang P., Ning Q., Meng M., Liu C. (2013) Antitumor activity of antimicrobial peptides containing CisoDGRC in CD13 negative breast cancer cells. PLoS One, 8(1), e53491. DOI:10.1371/journal.pone.0053491
14. Isbilen O., Rizaner N., Volkan E. (2018) Anti-proliferative and cytotoxic activities of *Allium autumnale* P.H. Davis (Amaryllidaceae) on human breast cancer cell lines MCF-7 and MDA-MB-231. BMC Complement. Altern. Med., 18(1), 30. DOI:10.1186/s12906-018-2105-0
15. Huang Y., Cheng Q., Jin X., Ji J.L., Guo S., Zheng S., Wang X., Cao H., Gao S., Liang X.J., Du Q., Liang Z. (2016) Systemic and tumor-targeted delivery of siRNA by cyclic NGR and isoDGR motif-containing peptides. Biomater. Sci., 4(3), 494-510. DOI:10.1039/c5bm00429b

Поступила: 28. 08. 2018.
Принята к публикации: 15. 11. 2018.

PHOTOSENSITIZER CHLORIN e6 INTERNALIZATION INTO TUMOR CELLS IN PHOSPHOLIPID NANOPARTICLES CONJUGATED WITH PEPTIDE CONTAINING THE NGR SEQUENCE

V.N. Prozorovskiy¹, L.V. Kostryukova¹, E.I. Korotkevich¹, T.I. Torkhovskaya^{1,2*}, G.E. Morozevich¹, E.G. Tikhonova¹, O.M. Ipatova¹

¹Institute of Biomedical Chemistry,

10 Pogodinskaya str., Moscow, 119221 Russia; *e-mail: torti@mail.ru

²Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine of Federal Medical Biological Agency, 1a Pirogovskaya str., Moscow, 119221 Russia

The possibility of increased internalization of the photosensitizer chlorin e6 in tumor cells was investigated using soy phosphatidylcholine nanoparticles 20-30 nm with or without attached peptide containing Asn-Gly-Arg (NGR) motif was studied. This amino acid sequence exhibits affinity to aminopeptidase N (CD13), which is overexpressed in a number of tumor cells and vessels. Nanoparticles with chlorin e6 were prepared with added of distearoylphosphatidylcholine (DSPE) conjugated through PEG with a hexapeptide containing the NGR sequence, and then were incubated with tumor cells HepG2 and MCF-7. Chlorin e6 accumulation in CD13-negative cells (MCF-7) did not depend on the presence of peptide NGR in nanoparticles. However, for HepG2 cells a twofold increase of chlorin e6 internalization was observed as compared with the same particles without NGR. Differences in the response of these two cell lines, differed in expression of aminopeptidase N (APN), suggest the possibility of this protein using for targeted delivery. The prospectivity of usage of phospholipids nanoparticles conjugated with targeting peptide for photodynamic therapy is discussed, taking into account possible variation of APN expression, inherent for many solid tumors.

Key words: chlorin e6; phospholipid nanoparticles; HepG2; MCF-7; aminopeptidase N; NGR

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank the peptide engineering laboratory staff, headed by Professor E.F. Kolesanova, in Institute of Biomedical Chemistry, for providing synthesized by them heptaarginine. This work was performed within the framework of the Program for Basic Research of Russia State Academies of Sciences for 2013-2020.