

## Multifunctional Nanoprobe for Imaging and Treatment of Atherosclerotic Plaques

Yanqu ZHOU <sup>1,2</sup>, Mei LIU <sup>1</sup>, Yunan HE <sup>1</sup>, Xiangjin LIAN <sup>3</sup>, Hong CHEN <sup>3</sup> & Chunmei FU <sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Key Laboratory of Drug-Targeting and Drug Delivery System of the Education Ministry and Sichuan Province, Sichuan Engineering Laboratory for Plant-Sourced Drug and Sichuan Research Center for Drug Precision Industrial Technology, West China School of Pharmacy, Sichuan University, Chengdu, PR China

<sup>2</sup> Department of Pharmacy, West China Second University Hospital, Sichuan University, China

<sup>3</sup> SCMPA Key Laboratory for Quality Research and Control of Chemical Medicine, Chengdu Institute for Drug Control, Chengdu, PR China

**SUMMARY.** Atherosclerosis (AS) is the root cause of global cardiovascular disease and a serious threat to human health. It is characterized by a large amount of lipid deposition in the arterial wall, so that monocytes continue to enter the arterial wall and differentiate into macrophages, which accumulate to form plaques. The destruction and rupture of plaques are prone to more serious effects. Because macrophages play an important role in the process of atherosclerosis, and it has been reported that myeloperoxidase (MPO) is highly expressed in inflammatory macrophages, it can be used as a potential target for imaging and treatment of atherosclerotic plaques. Moreover, it has been found that serotonin (5-HT) can be used as a substrate of MPO and is specifically activated to achieve targeted recognition of MPO. In this report, VPN-CDs@5-HT, a MPO-specific fluorescent nanoprobe, was designed for cell imaging of AS plaques. Cellular uptake and fluorescence imaging revealed that after incubation of VPN-CDs@5-HT with cells for a certain period, the target cell RAW264.7 had more uptake of VPN-CDs@5-HT and stronger fluorescence signal than the vascular smooth muscle cell HUVEC, and the uptake of bare carbon dot VPN-CDs in the two cells was less, with no significant difference, indicating that the nanoparticles coated with 5-HT showed stronger targeting. On this basis, a fluorescent probe VPN-CDs@P@5-HT was designed for targeted therapy of AS mice. The therapeutic experiment found that the probe can effectively reduce the concentration of reactive oxygen species (ROS) and nitric oxide (NO) in inflammatory cells, and can significantly reduce the TC, TG, and LDL-C of AS mice. The reduction rate is 60~70%, and the therapeutic effect on AS is about 1.5~2 times that of pitavastatin calcium. At the same time, *in vitro* imaging showed that the probe could specifically accumulate in the AS plaque for a long time after entering the body, with little deposition on non-specific organs, and could be metabolized by the liver and kidney of the body organs. Taken together, fluorescent nanoprobe constructed with fluorescent carbon dots as carriers can be effectively used for targeted therapy and fluorescence imaging of AS plaques, showing broad potential for the treatment of AS diseases.

**RESUMEN.** La aterosclerosis (AS) es la causa principal de las enfermedades cardiovasculares a nivel mundial y una grave amenaza para la salud humana. Se caracteriza por un gran depósito de lípidos en la pared arterial, lo que permite que los monocitos continúen penetrando en ella y se diferencien en macrófagos, que se acumulan para formar placas. La destrucción y ruptura de las placas son propensas a efectos más graves. Dado que los macrófagos desempeñan un papel importante en el proceso de la aterosclerosis, y se ha informado que la mieloperoxidasa (MPO) se expresa en gran medida en los macrófagos inflamatorios, puede utilizarse como una diana potencial para la obtención de imágenes y el tratamiento de las placas ateroscleróticas. Además, se ha descubierto que la serotonina (5-HT) puede utilizarse como sustrato de la MPO y se activa específicamente para lograr su reconocimiento dirigido. En este informe, se diseñó VPN-CDs@5-HT, una nanosonda fluorescente específica para MPO, para la obtención de imágenes celulares de placas de AS. La captación celular y las imágenes de fluorescencia revelaron que después de la incubación de VPN-CDs@5-HT con células durante un cierto período, la célula diana RAW264.7 tuvo una

**KEYWORDS:** atherosclerotic plaque, carbon dots, fluorescence imaging, macrophages, nanoprobe.

\* Author to whom correspondence should be addressed. E-mail: fuchunmei@scu.edu.cn

mayor captación de VPN-CDs@5-HT y una señal de fluorescencia más fuerte que la célula de músculo liso vascular HUVEC, y la captación de VPN-CDs de punto de carbono desnudo en las dos células fue menor, sin diferencia significativa, lo que indica que las nanopartículas recubiertas con 5-HT mostraron una focalización más fuerte. Sobre esta base, se diseñó una sonda fluorescente VPN-CDs@P@5-HT para la terapia dirigida de ratones AS. El experimento terapéutico encontró que la sonda puede reducir efectivamente la concentración de especies reactivas de oxígeno (ROS) y óxido nítrico (NO) en células inflamatorias, y puede reducir significativamente el TC, TG y LDL-C de ratones AS. La tasa de reducción es del 60~70%, y el efecto terapéutico sobre AS es aproximadamente 1,5~2 veces mayor que el de la pitavastatina cálcica. Al mismo tiempo, las imágenes in vitro demostraron que la sonda podía acumularse específicamente en la placa de EA durante un largo periodo tras su entrada en el organismo, con escasa deposición en órganos no específicos, y podía ser metabolizada por el hígado y el riñón. En conjunto, las nanosondas fluorescentes construidas con puntos de carbono fluorescentes como portadores pueden utilizarse eficazmente para la terapia dirigida y la obtención de imágenes de fluorescencia de placas de EA, mostrando un amplio potencial para el tratamiento de enfermedades de EA.

---