

<https://doi.org/10.22643/JRMP.2020.6.2.171>

2D-Covalent organic frameworks for bioimaging and therapeutic applications

Chanho Park and Dong Wook Kim*

Department of Chemistry and Chemical Engineering, Inha University, 100 Inha-ro, Nam-gu, Incheon 402-751, Korea.

ABSTRACT

Covalent organic frameworks (COFs) are porous crystalline polymers in which organic units are linked by covalent bonds and have a regular arrangement at the atomic level. Recently, the COFs have been much attention in bio-medical area such as bio-imaging, drug delivery, and therapeutics. These 2D nanoparticles are proving their value in nanomedicine due to their large surface area, functionalization through functional groups exposed on the surface, chemical stability due to covalent bonding, and high biocompatibility. The high π -electron density and crystallinity of COFs makes it a promising candidate for bioimaging probes, and its porosity and large surface area make it possible to be utilized as a drug delivery vehicle. However, the low dispersibility in water, the cytotoxicity problems of COFs are still challenged to be solved in the future. In this regard, several efforts that increase the degree of dispersion through functionalization on the surface of COFs for the application to the biomedical field have been reported. In this review, we would like to describe the advantages and limitations of COFs for bio-imaging and anti-cancer treatment.

Key Word: 2D nanomaterial, Covalent organic framework, Molecular imaging, Drug delivery, Nanomedicine.

Introduction

공유결합성 유기 골격체(covalent organic frameworks; COFs)는 유기물이 공유 결합으로 연결되어 원자 수준에서 규칙적인 배열을 가지는 다공성 결정 중합체이다. 이는 유기물의 가역적인 반응을 통해 만들어지며 널리 사용되는 결합의 종류들을 Figure 1에 수록하였다(1). 가벼운 원소들로 구성되어 밀도가 낮고 열안정성이 높으며 넓은 표면적과 다공성이라는 특징을 바탕으로 기체의 흡착 및 저장이나 촉매 반응에 응용하는 많은 연구들이 있었고(2,3), 광범위한 π -시스템의 특징을 활용한 반도체 및 광전자 분야에 응용하는 연구들이 진행되었다(4,5). 최근에는 COFs가 오로지 유기물질로 구성된다는 점에서 바이오 의학 분야에 적용하는 다양한

연구들이 시도되고 있다(6,7). 다른 나노 시스템과 비교하여 COFs의 특징은 나노 의료 분야에서 뚜렷한 이점을 가진다. 유기 골격의 넓은 표면적과 다공성은 치료제의 로딩 용량을 높이며 효율적인 약물 방출을 가능하게 하여 약물 전달 운반체 역할을 할 수 있도록 한다(8). 또한 구성 요소의 적절한 선택 및 기능화를 통해 다기능 진단제로 활용될 수 있다(9). 더불어 강한 공유결합과 금속이 없는 유기 환경으로 높은 화학적 안정성과 생체 적합성을 나타낸다(10). 이러한 특성을 바탕으로 최근 몇 년 간 바이오 이미징 및 치료 분야에서 COFs를 응용하는 연구들이 진행되었다.

그러나 낮은 생리적 안정성, 비특이적 결합 및 낮은 세포막 투과성 등의 COFs의 한계로 인해 바이오 의학 분야로의 적용에 대한 연구는 아직 초기 단계에 머물러 있다(11). 따라서

Received: December 15, 2020 / Revised: December 27, 2020 / Accepted: December 29, 2020

Corresponding Author : Prof. Dong Wook Kim, Department of Chemistry, Inha University, 100 Inha-ro, Nam-gu, Incheon 402-751, Korea. Telephone: +82-32-860-7679, FAX: +82-32-867-5604, e-mail: kimdw@inha.ac.kr

Copyright©2020 The Korean Society of Radiopharmaceuticals and Molecular Probes

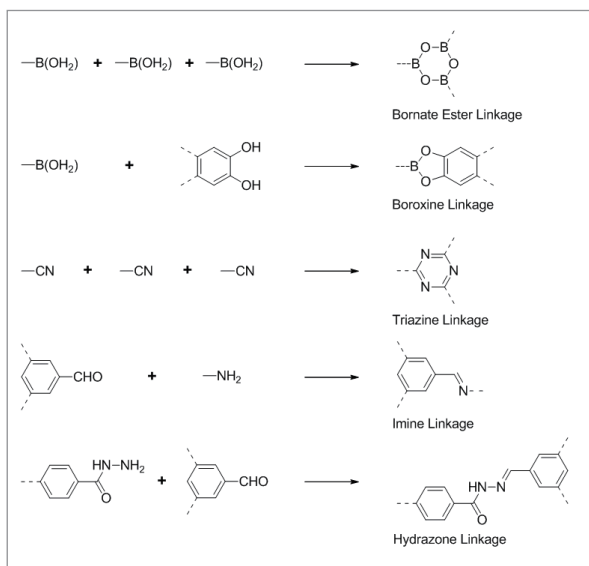


Figure 1. Reversible reactions for the construction of COFs.

암 진단 및 치료 분야에서의 잠재력을 활용하기 위해 COFs 기반 나노 의학에 대한 추가적인 조사가 필요하다. 본 논문에서는 COFs 구조 설계의 최근 연구 발전과 그것이 어떠한 방식으로 생체 적합성을 가진 나노 입자로 활용될 수 있는지에 대하여 조명하고자 한다. 특히 형광 이미징과 약물전달, 광열 치료 및 광역학치료를 포함하는 치료법의 응용에 관해 논의한다. 강한 형광 세기와 입자의 크기 제어 및 표면 기능화의 측면에서 공유 유기 골격 기반 나노 시스템이 가진 장점을 메커니즘 위주로 소개하고자 한다.

공유결합성 유기 골격체(COFs)를 이용한 형광 이미징

COFs의 구성 요소 변경을 통해 광학적 특성을 조절할 수 있다는 특징을 기반으로 COFs 나노 입자를 이용한 생체 내 형광 이미징이 조명되고 있다(10). 넓은 범위의 π-시스템을 가지는 공유결합성 유기 골격 구조체는 광자, 여기자, 전자, 정공의 상호작용을 위한 공간을 제공하여 높은 형광 세기를 보이며 이를 통해 생체 내 형광 이미징에 적용하는 연구가 많이 진행되고 있다.

최근에는 two-photon induction(TPI)을 통해 발생하는 형광이 일반적인 one-photon induction에 비해 광 손상 감소 및 고해상도와 생물 조직에 더 깊이 침투할 수 있다는 장점을 가지기 때문에 TPI를 이용한 형광 이미징 프로브들이 연구되고 있다. 이와 관련하여 donor-π-acceptor-π-donor(D-π-A-π-D) 배열을 골격으로 활용하여 TPI를 촉진하고 효율적인 성능을 달성하기 위한 benzothiadiazole 기반 TPI-COF가 보고되었다(12). TPI-COF는 aniline 유도체와 benzothiadiazole 기반 알데히드 발색단(chromophore)의 solvothermal 반응을 통해 합성되었다(Figure 2). TPI 성능은 D-π-A-π-D 배열과 발색단의 규칙적인 간격 및 넓은 π-conjugation 영역에 기인한다. 따라서 TPI-COF의 결정 구조는 층 사이의 π-π 적층 상호 작용을 약화시키고 발색단의 응집 유발 방출 소멸(aggregation-caused emission quenching)을 방지하여 효과적인 형광 이미징 프로브로 활용될 수 있다. 이러한 COFs의 광학적 특성을 이용한 연구가

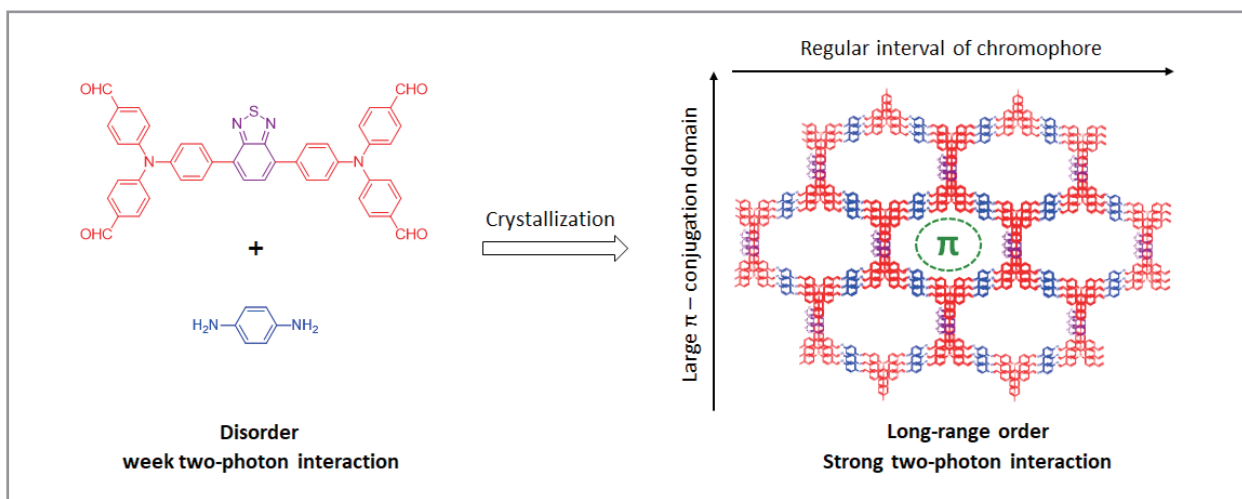


Figure 2. Schematic illustrating the crystallization of COFs for TPI; long-range order π-conjugated domain and the cooperative enhancement of a transition dipole leads to a strong two-photon interaction.

진행됨에 따라 유기물 기반 나노 입자를 이용한 바이오 이미징의 활용이 늘어날 전망이다.

COFs의 약물 전달 운반체로서 활용 가능성

COFs의 넓은 표면적과 다공성으로 약물 전달 운반체로서 이용 가능성이 제기되고 있다. π - π 상호작용 및 소수성 상호작용을 통해 치료제와 호스트-게스트 나노 복합체를 이루고 약한 산성을 띠는 종양 환경에서 나노 복합체의 구조가 분해되면서 효과적인 약물 방출을 나타낼 수 있다(8). 골격체의 채널은 적재된 치료제의 조기 누출을 피하고 종양 부위에서 약물을 효과적으로 축적할 수 있는 공간을 제공할 것으로 예상된다. 또한 나노미터 크기의 공유결합성 유기 골격체는 내피세포 층(endothelial cell layers)을 통과하여 다양한 조직들과 상호 작용을 할 수 있다. 특히 종양 근처의 혈관 구조는 일반 조직에 비해 엉성하여 발생하는 EPR effect (enhanced permeability and retention)로 인하여 약물이 적재된 나노미터 크기의 COFs가 쉽게 침투하여 지속적으로 머무를 수 있기 때문에 악성종양 부근의 영상을 오랜 시간 동안 얻을 수 있고 효과적으로 약물을 전달하여 종양을 억제할 수 있다(6). 이를 바탕으로 효과적인 약물 전달을 위한 COFs 기반 호스트-게스트 나노 시스템의 설계 및 연구가 진행되고 있다.

현재 대부분의 COFs는 *in vitro* 수준의 연구에 의해서만 평가되었으며 *in vivo* 수준의 연구는 많이 이루어지지 않았다. 이와 관련하여 polyethylene glycol이 연결된 curcumin(PEG-CCM) 유도체와 유기 골격체(APTES-COF-1)의 자가 조립(self-assembly)을 통해 생체 안정

성과 물에 대한 분산도가 높은 나노 복합체(PEG-CCM@APTES-COF-1)가 보고되었다(13). 나노 복합체의 전체 구조는 유기 골격을 유상으로 PEG-CCM을 계면 활성제로 하는 마이셀 구조를 이룬다(Figure 3). PEG-CCM은 약 동학 조절제로 사용되어 나노 복합체의 생체 적합성을 효과적으로 개선하고 혈액 순환 시간을 연장시키는 역할을 한다. 또한 항암 약물(DOX)을 적재를 통해 DOX와 CCM의 고유 형광을 실시간으로 모니터링하여 나노 복합체의 세포 흡수와 항암 약물 방출을 효과적으로 추적 가능하다. 약한 산성을 띠는 종양 환경에서 PEG-CCM과 APTES-COF-1의 결합이 약해지면서 나노 복합체 구조가 분해되고 효과적으로 약물을 방출하게 된다. 이러한 생체 적합성을 지닌 COFs 기반의 호스트-게스트 복합체가 연구됨에 따라 향후 COFs의 특성을 이용한 분자 영상 프로브 및 치료제로서의 활용이 가능할 것으로 기대된다.

효과적인 이미징 및 치료를 위한 COFs 나노 입자의 표면 기능화

광역학치료(photodynamic therapy; PDT)는 빛에 민감하게 반응하는 감광제(photosensitizers; PSs)를 암 부위에 주입한 후 특정한 파장의 레이저를 조사하여 종양만 특이적으로 괴사시키는 치료법이다(14). 감광제가 빛과 주위의 산소에 의해 화학적 반응을 일으키면서 생성되는 반응성 산소종과 이에 의해 유발되는 자유 라디칼이 암세포만 선택적으로 사멸 시킨다. 광열치료(photothermal therapy; PTT)는 42°C 이상의 온도에서 암세포가 회복 능력을 잃는다는 사실에 착안한 방법으로 암세포에 열을 가하여 직접 소멸시키거

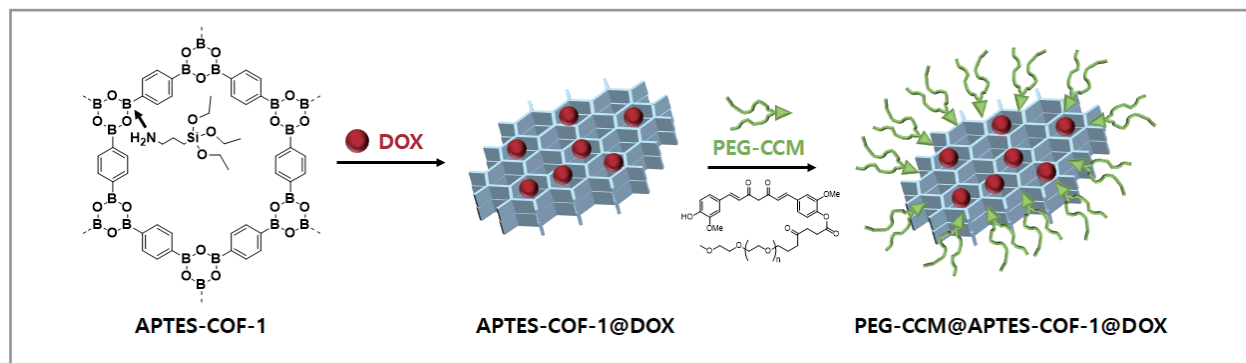


Figure 3. Schematic representative of COFs-polymer nanocomposite by self-assembly.

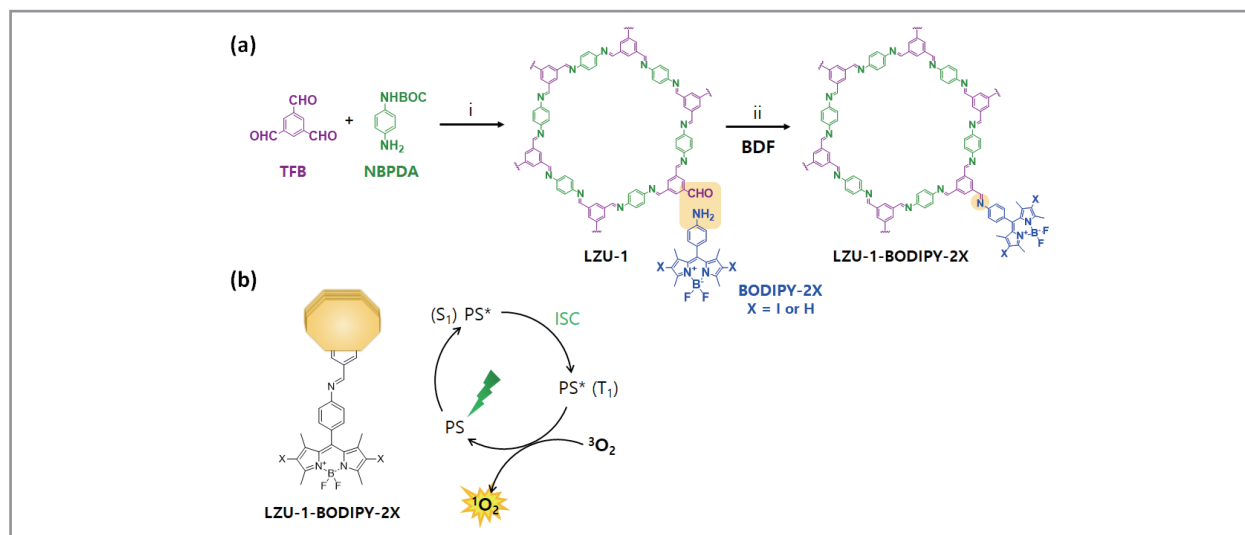


Figure 4. (a) Synthetic routes of COFs combined with BODIPY through bonding defects functionalization (BDF). (b) Schematic illustration for generation of reactive oxygen species (ROS) with excitation light source.

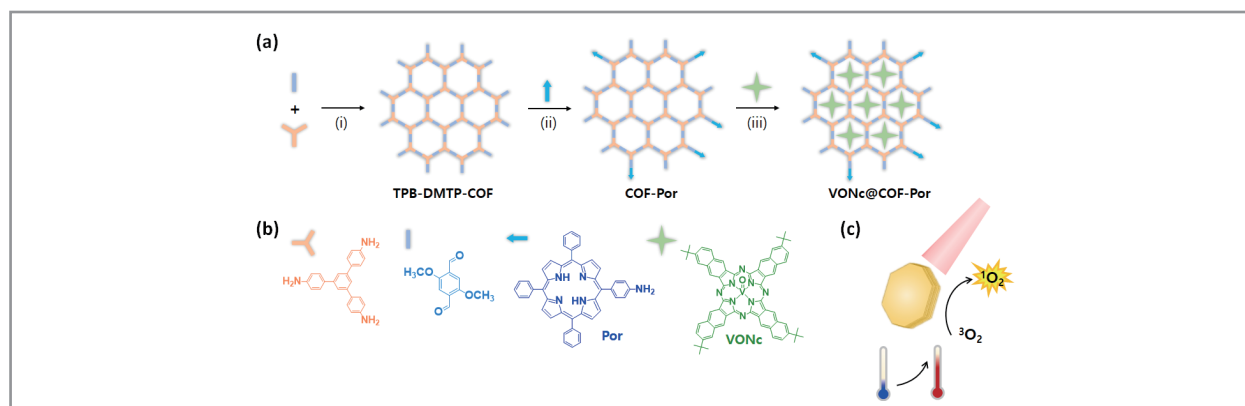


Figure 5. (a) Synthetic routes of functionalized COFs through bonding defects functionalization (BDF) and host-guest encapsulation, and (b) their chemical structures of monomer units. (c) Illustration for designing the synergistic nanotherapeutic system.

나 다른 항암 요법이 더 효과적으로 작용할 수 있도록 돕는 방법이다(15). 이러한 치료법들을 기반으로 한 공유결합성 유기 골격체의 응용 연구가 진행되고 있다.

COFs는 공유 결합을 통해 유기 빌딩 블록이 만들어지기 때문에 골격체의 끝부분에 결합되지 않은 작용기가 존재할 수 있으며 골격체에 작은 유기 분자를 결합시킬 수 있다(9). 결합 결함 기능화(Bonding defects functionalization; BDF)라고 불리는 이 방식은 COFs를 외부 첨가제의 도움 없이 치료제로 활용할 수 있도록 한다. 이를 바탕으로 감광제로 쓰이는 BODIPY의 아민 기와 공유결합성 유기 골격체의 결합되지 않은 알데히드 기의 축합을 통해 합성된 LZU-1-BODIPY-2I 및 LZU-1-BODIPY-2H가 제안되었다(Figure 4A). Figure 4B에서와 같이 BODIPY가 결합된 골

격체는 우수한 반응성 산소 종 생성 능력을 나타내기 위해 광역학치료를 위한 나노 캐리어로의 활용이 기대된다.

이에 더하여, 표면 기능화와 호스트-게스트 캡슐화를 동시에 활용하여 다양한 종류의 물질을 적재할 수 있는 진단 및 치료를 위한 다기능 나노 캐리어로 이용할 수 있다. 감광제 및 광열작용제(photothermal agents; PTAs)로 활용되는 porphyrin(Por)과 phthalocyanine(VONc) 유도체로부터 기능화 및 캡슐화를 통해 합성된 구형 나노 제제(VONc@COF-Por)가 보고되었다(16). Por은 공유 결합을 통해, VONc는 $\pi - \pi$ 상호작용 및 수소성 상호작용을 통해 유기 골격과 연결되었다(Figure 5A, B). 낮은 수용성으로 생물학적 적용이 힘든 물질들은 2D 다공성 나노 입자와의 결합을 통해 암에 특이적으로 전달될 수 있다. Figure 5C에서와 같

이 VONc@COF-Por는 레이저 조사 하에 효율적인 활성 산소 종 생성 및 발열 효과를 보여주어 광열치료와 광역학치료의 시너지를 통해 종양 세포의 증식 및 전이에 대한 효과적인 억제 효능을 나타낼 것이라 기대된다. 표면의 기능화를 통해 생체 적합성과 치료 효능을 향상시키는 연구가 진행됨에 따라 COFs의 tunable한 표면을 이용한 분자 영상 프로브 및 치료제로서의 활용이 가능할 전망이다.

Conclusion

지난 몇 년 간 바이오 이미징, 약물 전달, 치료제로의 활용을 위한 COFs의 설계 및 합성에 대한 연구가 많이 발전되어 왔다. 이 2D나노 입자는 넓은 표면적과 표면에 노출된 작용기를 통한 기능화, 유기물의 공유결합으로 인한 화학적 안정성 및 높은 생체 적합성 등으로 인해 나노 의학에서 그 가치가 입증되고 있다. 유기 골격의 높은 π -전자 밀도와 결정성은 바이오 이미징 프로브의 유망한 후보가 되며 다공성과 넓은 표면적은 약물 전달 운반체로 활용되도록 한다. 하지만 방향족 유도체 골격으로 인해 물에 대한 분산도가 낮으며 이에 따른 생체 적합성 및 세포 독성 문제는 앞으로 해결해야 할 과제이다. 이와 관련하여 유기 골격 표면에 노출된 작용기들의 기능화를 통해 분산의 정도를 높이는 연구들이 보고되고 있으며 이에 따라 생체 적합성 문제 또한 해결되어 바이오 의학 분야로의 적용이 기대된다. 본 총설에서는 앞서 설명한 COFs의 장점과 한계점을 개선하여 바이오 이미징과 항암 치료제로 사용한 연구 사례에 대하여 기술하였다. 이러한 연구들은 앞으로 분자 영상과 항암 치료에 있어 선구적인 역할이 기대되는 2D 나노 입자의 가능성을 보여준다.

Acknowledgments.

This work was supported by the Basic Science Research Program (grant code: NRF-2020R1A2C1009017) and by the MOTIE(Ministry of Trade, Industry & Energy (project number: 10080450) and KSRC(Korea Semiconductor Research Consortium) support program for the development of the future semiconductor device.

References

1. Lohse MS, Bein T. Covalent organic frameworks: structures, synthesis, and applications. *Adv Funct Mater* 2018;28:1705553-1705624.
2. Zhu L, Zhang Y-B. Crystallization of covalent organic frameworks for gas storage applications. *Molecules* 2017;22:1149-1178.
3. Ding S-Y, Gao J, Wang Q, Zhang Y, Song W-G, Su C-Y, Wang W. Construction of covalent organic framework for catalysis: Pd/COF-LZU1 in Suzuki-Miyaura coupling reaction. *J Am Chem Soc* 2011;133:19816-19822.
4. Krishnaraj C, Kaczmarek AM, Jena HS, Leus K, Chaoui N, Schmidt J, Van Deun R, Van Der Voort P. Triggering white-light emission in a 2D imine covalent organic framework through lanthanide augmentation. *ACS Appl Mater Interfaces* 2019;11:27343-27352.
5. Ding H, Li J, Xie G, Lin G, Chen R, Peng Z, Yang C, Wang B, Sun J, Wang C. An AIEgen-based 3D covalent organic framework for white light-emitting diodes. *Nat Commun* 2018;9:5234.
6. Mitra S, Sasmal HS, Kundu T, Kandambeth S, Math K, Diaz DD, Banerjee R. Targeted drug delivery in covalent organic nanosheets (CONs) via sequential postsynthetic modification. *J Am Chem Soc* 2017;139:4513-4520.
7. Feng X, Ding X, Jiang D. Covalent organic frameworks. *Chem Soc Rev* 2012;41:6010-6022.
8. Fang Q, Wang J, Gu S, Kaspar RB, Zhuang Z, Zheng J, Guo H, Qiu S, Yan Y. 3D porous crystalline polyimide covalent organic frameworks for drug delivery. *J Am Chem Soc* 2015;137:8352-8355.
9. Guan Q, Fu D-D, Li Y-A, Kong X-M, Wei Z-Y, Li W-Y, Zhang S-J, Dong Y-B. BODIPY-decorated nanoscale covalent organic frameworks for photodynamic therapy. *iScience* 2019;14:180-198.
10. Das G, Benyettou F, Sharma SK, Prakasam T, Gandara F, de la Pena-O'Shea VA, Saleh N, Pasricha

- R, Jagannathan R, Olson MA, Trabolsi A. Covalent organic nanosheets for bioimaging. *Chem Sci* 2018;44:8382-8387.
11. Deng C, Jiang Y, Cheng R, Meng F, Zhong Z. Biodegradable polymeric micelles for targeted and controlled anticancer drug delivery: promises, progress and prospects. *Nano Today* 2012;7:467-480.
 12. Zeng J-Y, Wang X-S, Xie B-R, Li M-J, Zhang X-Z. Covalent organic framework for improving near-infrared light induced fluorescence imaging through two-photon induction. *Angew Chem Int Ed* 2020;59:10087-10094.
 13. Zhang G, Li X, Liao Q, Liu Y, Xi K, Huang W, Jia X. Water-dispersible PEG-curcumin/amine-functionalized covalent organic framework nanocomposites as smart carriers for in vivo drug delivery. *Nat Commun* 2018;9:2785.
 14. Rong P, Yang K, Srivastan A, Kiesewetter DO, Yue X, Wang F, Nie L, Bhirde A, Wang Z, Liu Z, Niu G, Wang W, Chen X. Photosensitizer loaded nanographene for multimodality imaging guided tumor photodynamic therapy. *Theranostics* 2014;4:229-239.
 15. Zhou J, Lu Z, Zhu X, Wang X, Liao Y, Ma Z, Li F. NIR photothermal therapy using polyaniline nanoparticles. *Biomaterials* 2013;34:9584-9592.
 16. Guan Q, Zhou L-L, Li Y-A, Li W-Y, Wang S, Song C, Dong Y-B. Nanoscale covalent organic framework for combinatorial antitumor photodynamic and photothermal therapy. *ACS nano* 2019;13:13304-13316.