リン酸エステル結合を主鎖にもつポリマーの 制御合成と薬物輸送担体への応用

岩 崎 泰 彦

Controlled Synthesis of Polyphosphoesters and Their Application as Drug Carriers

Yasuhiko IWASAKI (Department of Chemistry and Materials Engineering, Kansai University, 3-3-35 Yamate-cho, Suita 564-8680, Japan) yasu.bmt@kansai-u.ac.jp

Polyphosphoesters have a high impact in bio-related fields because of their biocompatibility and structural similarities to naturally occurring molecules. The phosphoester backbone is degradable through spontaneous hydrolysis and the degradation is accelerated with enzymatic treatment. Furthermore, a variety of polyphosphoesters can be obtained by ring-opening polymerization because cyclic phosphoranes as monomers are synthesized from the condensation of alcohol and chloro-cyclic phosphorane. Here, a modern synthetic route of polyphosphoesters with the use of organocatalysts is introduced. For this synthetic route, the molecular weight of polyphosphoesters could be controlled and the kinetics coincided with the theoretical value. In addition, higher molecular weight polymers with good yield and narrow distribution could be obtained. Polyphosphoesters formed in a ring-opening polymerization can have essentially desired topology through appropriate selection of the functional initiator. They can be used as building blocks in constructing self-assembly. The intracellular delivery of drugs and nucleic acids incorporated with polyphosphoester associates is also mentioned in this review.

Key Words : Polyphosphoester, Ring-opening Polymerization, Organocatalyst, Thermoresponsive Polymer Biodegradability, Self-assembly, Drug Carrier

1. は じ め に

リンの化学は生物学、生化学、医学、薬学、工学、農学など、非常に広範な分野において重要な役割を果たしており、その恩恵をわれわれは日常的に享受している。さらに、リンは生体を構成する6つの多量元素のひとつにあげられ、核酸、ヌクレオチド、脂質、ヒドロキシアパタイトなど生命活動に欠かせない分子の形成に利用されている。リンを含む生体分子の機能は情報の保持・伝達、エネルギー保存・利用、自己組織化による細胞膜構築、骨格の形成など多岐にわたる。近年、これらの生物機能を人工的に再現しようとする試みから、生体分子を模倣したポリリン酸、リン酸エステル、リン酸塩などの化学合成が進められている。その具体例のひとつとしてリンを含有するポリマーのバイオマテリアル応用が関心を集めている。

リンを含む合成ポリマーの歴史は古く、その合成については1950年代から報告されている¹⁾。リン含有ポリマーは難燃性に優れていることがよく知られており、現在でも多くの化学製品に用いられている。その一方で、1990年代中盤からバイオマテリアルとしても注目されるようになった。筆者らはリン脂質と同じ極性基をもつ高分子がタン

パク質や細胞と非特異的に相互作用せず、極めて優れた生体適合性を示すことを明らかにした²⁾。さらに、新たな生分解性ポリマーとして核酸の主鎖構造を模したポリリン酸エステルの興味深い特徴も見いだしている。本稿では筆者らが最近報告したポリリン酸エステルの精密合成について解説するとともに、ポリリン酸エステルを構成成分とした薬物担体の設計と特徴について紹介する。

2. ポリリン酸エステルの制御合成

2.1 ポリリン酸エステルの合成

ポリリン酸エステルの合成法として、開環重合、重縮合、エステル交換反応、酵素重合があげられるが、比較的高分子量のポリマーを得るためには、エステル交換反応もしくは開環重合が有効である。エステル交換反応に関する合成

岩崎 泰彦；関西大学化学生命工学部化学・物質工学科（〒564-8680 吹田市山手町3-3-35）。平成7年3月 日本大学大学院理工学研究科博士前期課程修了。高分子化学、生体材料学、日本バイオマテリアル学会理事。

についてはTroevらにより¹⁾, 一方, 開環重合による合成についてはPenczekらにより³⁾それぞれ多くの事例が報告されている. Troevらはジメチルホスファイトとジオールとのエステル交換反応により, 分子量分布の狭い ($M_w/M_n < 1.2$) ポリホスファイトが得られることを明らかにした. 彼らは, アサートン・トッド反応によりポリホスファイトの側鎖に置換基を導入し, 様々な構造のポリリン酸エステルやポリリン酸アミドを得ている. これに対し, Penczekらは5員環または6員環の環状ホスホランモノマーを合成し, これらを開環重合することにより, ポリリン酸エステルを合成した. 環状ホスホランモノマーは図1に示すように非水系の溶媒中で環状クロロホスホランとアルコールの縮合により合成されるのが通例であるが⁴⁾, エステル交換反応によっても環状モノマーを得ることができる⁵⁾. 環状ホスホランモノマーの重合については, アニオン開環重合とカチオン開環重合の双方から検討されてきたが, カチオン開環重合では高分子量のポリリン酸エステルを得ることが難しく, アニオン開環重合で合成された報告例が圧倒的に多い. アニオン開環重合の触媒としてはアルキルアルミニウムや金属アルコキシドが用いられる.

Wangらは脂肪族ポリエステルの合成に広く利用されているオクチル酸スズ ($\text{Sn}(\text{Oct})_2$) により, 環状ホスホランモノマーを開環重合できることを報告した⁶⁾. この重合反応ではアルコールもしくは1級アミンを開始剤として用いることができる. まず, 開始剤のアルコールと $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ が反応しスズアルコキシドが生成する. このアルコキシドが真の開始剤として働き, スズによって活性化された環状ホスホランモノマーのリン原子にアルコキシドが求核攻撃して重合が開始される. 同様にスズ-酸素の間にモノマーが挿入され, 成長反応が進行する.

金属触媒は高い触媒活性を示す反面, 失活しやすく, また, 重合の制御が困難であることも指摘されている. Hedrickらは金属触媒の代わりに含窒素複素環化合物 (以下, 有機触媒とする) を用いて分子量分布の狭い脂肪族ポリエステルやポリカーボネートの合成に成功した⁷⁾. この発見によって, 分子量の精密制御が可能になっただけでなく, ポリマーのトポロジカル制御も著しく容易になった. 筆者らはこの重合条件を環状ホスホランの開環重合に応用し, 1, 8-ジアザビシクロ [5.4.0] ウンデカ-7-エン (DBU) ま

図1 環状ホスホランモノマーの合成と開環重合

たは1, 5, 7-トリアザビシクロ [4.4.0] デカ-5-エン (TBD) を用いて分子量分布の狭い ($M_w/M_n < 1.1$) ポリリン酸エステルの合成が可能になることを見出した⁸⁾. 有機触媒は金属触媒に比べ生成ポリマーとの分離が容易になると考えられ, ポリマー中に残留する触媒の毒性を回避できる面からも有用である. 環状ホスホランモノマーのひとつである2-イソプロポキシ-2-オキソ-1, 3, 2-ジオキサホスホラン (IPP; 図1のRがイソプロピル基) に開始剤の2-ヒドロキシエチル-2'-ブロモイソブチレート (HEBB) と先に挙げた2種類の有機触媒のどちらかを溶解し, 常温で開環重合を行った. この重合では有機触媒と水素結合を形成した開始剤の酸素原子が環状ホスホランモノマーのリン原子を求核攻撃して重合が開始される. 数平均分子量をゲル浸透クロマトグラフィーならびに¹H NMR分析より算出した. その結果, モノマーの転化率の増加と生成ポリマーの数平均分子量の増加が1次の比例関係になることがわかった (図2). 本合成では2種類の有機触媒を用いたが, 触媒による反応性の違いを比較するとTBDを用いた場合, 重合が著しく早く進行した. TBDとIPPを重水素化トルエンに溶解し測定した¹H NMRスペクトルを図3に示す. DBUにIPPを混合したスペクトルではそれぞれ単独のスペクトルに由来するシグナルのみ確認された. この結果は, DBUがIPPと相互作用しないことを示している. 一方,

図2 DBUを重合触媒として用いてIPPを開環重合した時の転化率と数平均分子量の関係

図3 TBDとIPPおよび両者を混合した時の¹H NMRスペクトル

TBDとIPPを混合した系では、TBDとIPPに由来するシグナルに加え、新たなシグナルも観察された。これらは、TBDのN-H部位がIPPのリン原子に作用し、開環したモノマーのシグナルによるものである。TBDは開始剤のみならずモノマーの開環も促すため、重合が早く進行する。いずれの触媒を用いた場合でもゲル浸透クロマトグラフィーで求めた分子量と仕込みと転化率から計算した理論分子量が良く一致しており、また、仕込み組成に限らず全ての反応条件において分子量分布の狭いポリマーが得られた。この重合条件は環状ホスホランモノマーの側鎖の構造に影響を受けず、様々なポリマーを獲得するのに有効である。最近になり、ポリリン酸エステル合成における有機触媒の有効性が他の研究者によっても実証されている。さらに、この制御重合がポリホスホネートの合成にも有効であることがSteinbachらにより報告されている⁹⁾。Jeromeらは有機触媒を用いて合成したポリリン酸エステルの分子量分布が収率の増大とともにエステル交換反応の影響を受け広くなることを指摘し、先にあげた触媒に加えチオウレアを添加する条件を提唱した。この条件では、開始剤のアルコールと相乗的に環状ホスホランモノマーが活性化されるため、60 %を超える高収率の領域においても分子量が狭く維持される¹⁰⁾。

2.2 ポリリン酸エステルのトポロジカル制御

ポリリン酸エステルは末端や側鎖に置換基を導入でき、この置換基を利用してブロック、グラフト、多分岐といった多様な形態をもつポリマーの合成を可能にする(図4)。先に述べたように、スズ触媒や有機触媒を用いた重合では、水酸基を持つ分子を開始剤として利用することができる。Wangらはポリエチレングリコール(PEG)¹¹⁾、ポリL-乳酸(PLLA)¹²⁾、ポリε-カプロラクトン(PCL)¹³⁾をマクロ開始剤として、これらの末端水酸基より環状ホスホランモノマーを開環重合することにより、種々のブロックコポリマーを合成した。さらに、プロパギルアルコールを開

始剤として合成したポリリン酸エステルの末端にアジド基を導入し、分子内環化反応を誘起させ、環状ポリリン酸エステルの合成が可能になることを報告している¹⁴⁾。

一方、筆者らは原始移動ラジカル重合(ATRP)の開始基として機能するプロモイソブチリル基を側鎖もしくは末端に導入したポリリン酸エステルを合成し、これらをマクロ開始剤として樹形ポリマーやブロックポリマーの合成を試みた¹⁵⁾。樹形ポリマーの合成では、プロモイソブチリル基を持つ環状ホスホランモノマーとIPPを共重合し、その後、2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリン(MPC)をATRPによってグラフト重合した。ポリリン酸エステルの主鎖を塩基性条件下で強制的に加水分解すると、分解生成物は分子量分布の狭いMPCポリマーからなることが確認され、ポリリン酸エステルからグラフト鎖が均一に伸長していることが分かった。主鎖の疎水性を高めることにより、樹形ポリマーは両親媒性を示し、疎水性物質を可溶化することも認められた。

このようにポリリン酸エステルは環状ホスホランモノマーの官能基がポリマーの側鎖に導入されるため、脂肪族ポリエステルに比べ、構造設計の自由度が高く、また、高分子反応による修飾も容易に行うことができる。最近、Wangらは、側鎖にアルキンをもつ非水溶性のポリリン酸エステルを合成し、アジド基を末端に有するPEGをクリック反応によりグラフトし、このポリマーがPEG鎖をシエルにポリリン酸エステルをコアとした会合体を形成することを示した¹⁶⁾。Wooleyらもチオール-イン反応によりアルキンを側鎖にもつポリリン酸エステルにポリカチオンやポリアニオンを修飾し、表面電荷の制御されたナノ粒子の調製に成功している(図5)¹⁷⁾。

一方、Hungらはユニークな方法で多分岐ポリリン酸エステルの合成に成功した。側鎖に水酸基をもつ環状ホスホランモノマー、2-(2-ヒドロキシエトキシ)エトキシ-2-オキソ-1, 3, 2-ジオキサホスホランは、60℃に加熱することで自

図4 トポロジカル制御されたポリリン酸エステルの例

図5 側鎖にアルキンをもつポリリン酸エステルをビルディングブロックとした高分子集合体の荷電制御(文献17より転載)

己縮合反応を起こし、その結果、多分岐構造を形成する^{18, 19)}。この多分岐ポリマーの末端には水酸基が存在するため、後修飾により最外層を機能化した多分岐ポリマーを調製できる。

3. ポリリン酸エステルの特徴

ポリリン酸エステルの特徴は側鎖の構造に強く依存することは言うまでもないが、主鎖骨格に結晶性は無い。最も単純な構造を有するポリリン酸エステルの一つであるポリ(2-エトキシ-2-オキソ-1, 3, 2-ジオキサホスホラン (PEP; 図1のRがエチル基)) のガラス転移温度は -40°C 付近に現れ、常温で粘稠な物性を示す。

ポリリン酸エステルの加水分解特性はPenczekらにより詳細に評価されている²⁰⁾。彼らは、pH1から12の水溶液中における側鎖にポリ(2-メトキシ-2-オキソ-1, 3, 2-ジオキサホスホラン (PMP; 図1のRがメチル基)) の分解性を調べた。PMPは中性で最も安定であり、加水分解速度は、酸性では比較的小さくゆっくり分解するのに対し、塩基性では大きく容易に分解する。また、酸性では側鎖の分解が主鎖の分解に比べ速いことも明らかにした。ポリリン酸エステルの分解は水との接触による加水分解のみならず、酵素の存在によって加速されることも示されている²¹⁾。

脂肪族ポリエステルは一般的に含ハロゲン溶媒に容易に溶けるが、水やメタノールなどのプロトン性溶媒に溶解しない。一方、ポリリン酸エステルは、含ハロゲン溶媒に易溶であるだけでなく、アルコールなどの極性溶媒にも極めて良く溶ける。また、2-アルコキシ-2-オキソ-1, 3, 2-ジオキサホスホランの重合体では側鎖のアルコキシ基がメトキシ基およびエトキシ基の場合、水に溶解する。

さらに興味深いことに、筆者らは単純なアルキル鎖を側鎖に持つポリマーの水に対する溶解性が、生理的条件付近で変化することを見いだした²²⁾。前項で合成した側鎖にイソプロポキシ基を持つポリマーPIPPの水溶液を調製し、温度を変えながら可視光(500 nm)の透過率を測定した。図6にPIPPをリン酸緩衝溶液に1wt%の濃度で溶かし、溶液の温度の変化にともなう透過率の変化を示す。PIPPの水溶液は下限臨界溶解温度(LCST)型の温度応答性を示すことが明らかとなった。この条件におけるLCSTと分子量の関係を調べたところ、分子量が大きくなるに連れてLCSTが低下することがわかった。すなわち、分子量が大きくなるにつれ、分子間での相互作用が起り易くなる。また、透過率が減少した溶液を光学顕微鏡で観察したところ、この変化がコアセルバート形成によることも明らかとなった。ポリリン酸エステルのコアセルバート形成は、ポリマーの分子量のみならず、他の構造を側鎖に持つユニットとの共重合組成比や、水溶液中の塩濃度の影響を受ける。アセトキシメチルエステル基を側鎖に導入したポリリン酸エステルは、酵素に反応して、その温度応答

図6 ポリリン酸エステル (PIPP) の温度応答性におよぼす分子量の影響。グラフはPIPPをリン酸緩衝溶液 (pH7.4) に1wt%の濃度で溶解した溶液の結果。(×) PIPP₅₀, (■) PIPP₄₈, (◆) PIPP₃₂, (●) PIPP₁₃ 数字は重合度。

性を変化させることも明らかになっている²³⁾。

4. 薬物輸送担体への応用

バイオマテリアルの分野においてポリリン酸エステルが最初に注目されたのは、核酸担体 (ベクター) としての応用である。Leongらはカチオン性のポリリン酸エステルやポリリン酸アミドをアサートン・トッド反応により合成し、このポリマーとプラスミドDNAとの複合体を調製した²⁴⁾。これらのカチオン性ポリリン酸エステルは、細胞毒性が低く、高いトランスフェクション活性を示すことを明らかにした。最近、Maoらはポリリン酸アミド (PPA) の正の電荷密度がDNAとの複合化およびトランスフェクション効率に及ぼす影響について詳細に検討した²⁵⁾。ポリマーの分子量と正味正電荷が増加するにつれて、DNAとの結合能が増し、ポリマー/DNA複合体のサイズが小さくなり、複合体の安定性が高まることが示された。さらに、安定性の高い複合体ほど、トランスフェクション活性が高くなることも明らかになった。

前項でも述べたようにポリリン酸エステルの形態はモノマーに由来する側鎖の構造によって容易に制御でき、側鎖や末端に導入した官能基を利用してトポロジカルな分子制御が行える。その典型的な例として、水溶性のポリリン酸エステルと非水溶性の脂肪族ポリエステルのブロック共重合体があげられる。このブロック共重合体は両親媒性を示し、水媒体中で脂肪族ポリエステルをコアとした会合体を形成する。この会合体のコアに疎水性の薬物を封入することにより、可溶化でき、さらに会合体から薬物を徐放することも可能になる。最近、Wangらはバクテリアが産生するホスファターゼやホスホリパーゼによってポリリン酸エステルが積極的に分解されることを見だし、マクロファージに貪食されたバクテリアを効果的に不活化する新たなシステムを考案した²⁶⁾。主鎖にジスルフィド結合をもつ疎水性のポリリン酸エステルにPEGをグラフトしたポリマーは水媒体中で自発的にナノゲルを形成する。PEGの末端にマンノースを導入することによりマクロファージに指向性をもつナノゲル (MNG-V) を調製できる。MNG-V

図7 ポリリン酸エステルを表面被覆した骨指向性リボソームの模式図

内部に封入されたバンコマイシンの放出が、バクテリアが存在する環境で有意に促進されることを明らかにするとともに、ゼブラフィッシュの胚を用いて感染モデルを作製し、MNG-Vの投与によってバクテリアが*in vivo*で不活化されることを実証した。

一方、Wooleyらは、ポリリン酸エステルを疎水性コアとした会合体を調製し、薬物担体としての利用を検討している²⁷⁾。例えば、PEGを開始剤としてポリリン酸エステルを開環重合し、クリック反応で脂溶性の抗がん剤であるパクリタキセルをポリリン酸エステルに結合させ、抗がん剤を担持させた両親媒性ブロックコポリマーを調製した。このブロックコポリマーは高分子ミセルを形成するとともに、クリック反応に関与した硫黄原子が酸性環境下でプロトン化され、ポリマーとパクリタキセルを結ぶエステル結合の加水分解を触媒する作用を示すことも明らかにし、pHに応答して薬物を放出できるキャリアの調製に成功した。細胞内環境に応答して薬物を放出するシステムは、他にもジスルフィド結合²⁸⁾やヒドラゾン結合²⁹⁾を利用したものが報告されている。

生体膜構造に倣ったリン脂質リボソームも薬物輸送担体として有用である。筆者らはコレステリル基を末端にもつポリリン酸エステルをリン脂質リボソームの表面に修飾し、リン脂質リボソームの安定化と標的指向性の付与を試みた(図7)³⁰⁾。リン脂質に対し適度な割合でポリリン酸エステルを混合して作製したリン脂質リボソームでは、内部に封入したモデル薬物の放出が抑制され、さらに、ポリマー修飾によってリン脂質分解酵素に対する耐性が向上した。さらに、ポリマー被覆することにより骨芽細胞が産生したカルシウム沈着物との親和性も高まることがわかり、新たな骨指向性薬物担体としての可能性が示唆された。

5. ま と め

本稿ではポリリン酸エステルの制御合成と薬物輸送担体としての応用について紹介した。ポリリン酸エステルは核酸の骨格構造と類似した構造を有することから、近年バイオマテリアルとしても注目されるようになった。ポリリン酸エステルの合成を可能にする種々の合成法の中で、開環重合は構造が制御されたポリマーを獲得するために最良の手段と言える。有機触媒を用いることにより分子量分布の

極めて狭いポリマーが得られることに加え、多彩な官能基をもつ環状ホスホランモノマーを簡易な縮合反応を通じて設計できることも、開環重合のメリットである。未だ、核酸のように情報の保持・伝達機能を付与する段階には至っていないが、ポリリン酸エステルが従来の生分解性ポリマーには認められないユニークなマテリアルをもたらすことを確信している。

References

- 1) Troev, K. D.: "Polyphosphoesters: Chemistry and Application", Elsevier, Waltham, Chapter 1 (2012)
- 2) Iwasaki, Y.; Ishihara, K.: *Sci. Tech. Adv. Mater.*, **13**, 064101 (2012)
- 3) Penczek, S.: "Models of Biopolymers by Ring Opening Polymerization", CRC, Boca Raton, Chapter 6 (1989)
- 4) Iwasaki, Y.; Akiyoshi, K.: *Macromolecules*, **37**, 7637 (2004)
- 5) Maffei, M.; Buono, G.: *Tetrahedron*, **59**, 8821 (2003)
- 6) Xiao, C.-S.; Wang, Y.-C.; Du, J.-Z.; Chen, X.-S.; Wang, J.: *Macromolecules*, **39**, 6825 (2006)
- 7) Iwasaki, Y.; Yamaguchi, E.: *Macromolecules*, **43**, 2664 (2010)
- 8) Kamber, N.E.; Jeong, W.; Waymouth, R. M.; Pratt, R. C.; Lohmeijer, B. G.; Hedrick, J. L.: *Chem Rev.*, **107**, 5813 (2007)
- 9) Steinbach, T.; Ritz, S.; Wurm, F. R.: *ACS Macro Lett.*, **3**, 244 (2014)
- 10) Clément, B.; Grignard, B.; Koole, L.; Jérôme, C.; Lecomte, P.: *Macromolecules*, **45**, 4476 (2012)
- 11) Wang, Y.-C.; Tang, L.-Y.; Li, Y.; Wang, J.: *Biomacromolecules*, **10**, 66 (2009)
- 12) Yang, X.-Z.; Sun, T.-M.; Dou, S.; Wu, J.; Wang, Y.-C.; Wang, J.: *Biomacromolecules*, **10**, 2213 (2009)
- 13) Wang, Y.-C.; Li, Y.; Yang, X.-Z.; Yuan, Y.-Y.; Yan, L.-F.; Wang, J.: *Macromolecules*, **42**, 3026 (2009)
- 14) Yuan, Y.-Y.; Du, J.-Z.; Wang, J.: *Chem. Commun.*, **48**, 570 (2012)
- 15) Iwasaki, Y.; Yamaguchi, E.: *Macromolecules*, **43**, 2664 (2010)
- 16) Wang, Y.-C.; Yuan, Y.-Y.; Wang, F.; Wang, J. J.: *Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.*, **49**, 487 (2011)
- 17) Zhang, S.; Zou, J.; Zhang, F.; Elsbahy, M.; Felder, S. E.; Zhu, J.; Pochan, D. J.; Wooley, K. L.: *J. Am. Chem. Soc.*, **134**, 18467 (2012)
- 18) Liu, J.; Pang, Y.; Huang, W.; Zhai, X.; Zhu, X.; Zhou, Y.; Yan, D.: *Macromolecules*, **43**, 8416 (2010)
- 19) Liu, J.; Huang, W.; Pang, Y.; Zhu, X.; Zhou, Y.; Yan, D.: *Biomacromolecules*, **11**, 1564 (2010)
- 20) Baran, J.; Penczek, S.: *Macromolecules*, **28**, 5167 (1995)
- 21) Gan, Z.; Jim, T. F.; Li, M.; Yuer, Z.; Wang, S.; Wu, C.: *Macromolecules*, **32**, 590 (1999)
- 22) Iwasaki, Y.; Wachiralarpphaithoon, C.; Akiyoshi, K.: *Macromolecules*, **40**, 8136 (2007)
- 23) Iwasaki, Y.; Kawakita, T.; Yusa, S.: *Chem. Lett.*, **38**, 1054 (2009)
- 24) Zhao, Z.; Wang, J.; Mao, H.-Q.; Leong, K. W.: *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **55**, 483 (2003)
- 25) Ren, Y.; Jiang, X.; Pan, D.; Mao, H.-Q.: *Biomacromolecules*, **11**, 3432 (2010)
- 26) Xiong, M. H.; Li, Y. J.; Bao, Y.; Yang, X. Z.; Hu, B.; Wang, J.: *Adv. Mater.*, **24**, 6175 (2012)
- 27) Zou, J.; Zhang, F.; Zhang, S.; Pollack, S. F.; Elsbahy, M.; Fan, J.; Wooley, K. L.: *Adv. Healthcare Mater.*, **3**, 441 (2014)
- 28) Wang, Y.-C.; Li, Y.; Sun, T.-M.; Xiong, M.-H.; Wu, J.; Yang, Y.-Y.; Wang, J.: *Macromol. Rapid Commun.*, **31**, 1201 (2010)
- 29) Sun, C.-Y.; Dou, S.; Du, J.-Z.; Yang, X.-Z.; Li, Y.-P.; Wang, J.: *Adv. Healthcare Mater.*, **3**, 261 (2014)
- 30) Ikeuchi, R.; Iwasaki, Y.: *J. Biomed. Mater. Res. A*, **101A**, 318 (2013)