高分子ミセル —バイオナノ粒子としての高分子ミセルの最近の展開—

長 崎 幸 夫

多相系の高分子材料がきわめて精密に分子設計されるようになり、その自己組織化を巧みに制御したさまざまな高分子ミセルが設計され、かつナノバイオ領域において大きく展開されている。とくに数十ナノメートルサイズの高分子ミセルは DDS や遺伝子デリバリーで大きな進展を遂げ、高分子科学を基盤とした新たな産業創出の実現が期待される。

はじめに

ブロック共重合体による高分子ミセル形成の研究は、40 年以上前の Newman による報告にまでさかのぼる¹⁾。図 1 にはそれ以降のブロック共重合体による高分子ミセルの報告数の推移をまとめる。高分子ミセルの研究は 80 年代までその物性に興味もたれ、地道に進められてきたが、1990 年代に入ってその報告数は飛躍的に上昇しており、近年のナノテクノロジー戦略の一翼を担うツールとして期待されていることが読み取れる。これらの論文のキーワードを拾い上げてみると、ブロックポリマーやスチレンなどの材料関連を除き、上位には drug, delivery, carrier などの用語が並び、バイオツールとしてのナノ粒子の研究開発が盛んに進められていることが理解される (図 2)。このよ

図 1 ブロック共重合体による高分子ミセルに関する論文数 (SciFinder 調べ)

NAGASAKI, Yukio 東京理科大学基礎工学部工学科 (278-8510 野田市山崎 2641)・教授, 工学博士。1987 年 東京理科大学大学院工学研究科工業化学専攻博士課程修了。専門は機能性高分子材料。

Polymer Micelle—Recent Advances of Polymer Micelle as Bionanosphere—

うに高分子ミセルの研究は、1990 年代に入り、バイオナノ粒子としての高い機能性が着目され、現在に至っている。

本稿では 99 年の拙著高分子科学の進歩²⁾以降で、バイオナノ粒子としての高分子ミセルの新しい流れに関してまとめる。高分子ミセルに関するすばらしい総説が数多く出されているので併せて参照されたい^{3)~5)}。

薬物送達用高分子ミセル

1990 年代に入り、片岡を中心としたグループが世界に先駆けてブロック共重合体による高分子ミセルが薬物送達システム用キャリアーとしてきわめて効果的であることを提案⁶⁾して以来、さまざまな高分子ミセルが設計され、報告されてきている。これらの詳細は既報⁷⁾に譲る。現在は表 1 に示すように日、米、韓国で実用化に向けて臨床試験段階に入っている。

薬物送達用高分子ミセルの特徴を改めてまとめると、①両親媒性ブロック共重合体の自己組織化によるナノ粒子のため低分子会合体に比べて安定である、②表層の水溶性高分子ブラシ (ほとんどはポリエチレングリコールが利用

図 2 高分子ミセルに関するキーワード検索結果 (SciFinder 調べ)

表 1 薬物内包型高分子ミセルの臨床開発状況^{a)}

開発番号	研究開発	薬物	開発段階 ^a
SP1049C	Supratek Pharma (カナダ)	アドリアマイシン	米国 P2
GeneoxolPM	Samyang (韓国)	パクリタキセル	米・韓国 P1
NK911	日本化薬・東大・東京女子医大	アドリアマイシン	日本 P1

^a P1, P2 はそれぞれ臨床第 I 相臨床薬理試験, 第 II 相探索的試験を示す。

される) が非特異吸着を抑える, ③数十ナノメートルサイズの粒子は細網内皮系から異物としての認識を受けにくく, かつ腎糸球体からの排出も防ぐことが可能である。このような効果によって体内でのステルス性を向上させ, きわめて長い体内半減期が達せられる。さらには高分子ミセルは会合体であるため, 使用後解離すると腎臓から排出するサイズ(分子量 1~2 万程度)まで低下する。これはこれまで問題であったポリマードラッグの体外排出を解決する上で重要である。

このように高分子ミセルが生まれて 40 年を経過し, 薬物キャリアーとして医療分野への実用化に展開しようとしていることはコンタクトレンズや血液透析用ホローファイバーなど, ライフサイエンス分野ですでに活躍している高分子材料⁹⁾に加えて新たな産業創出が期待される。

遺伝子ベクター

高分子ミセルの最近のきわめて強い流れは遺伝子ベクターへの展開であろう。遺伝子治療はよく知られているように, 治療に使う遺伝子をベクターと呼ばれる運び役に入れて患者の体内細胞に入れ, 細胞本来の機能を回復させることによって病気の治療を行うものである。ベクターとしては世界的に無害化したウイルスが利用されてきているものの, ベクターウイルスが原因での発病が米国, フランスで相次いで報告され, 問題化してきている(フランスでは現在遺伝子治療を凍結中)¹⁰⁾。

このような事態を受け, 非ウイルスベクターに注目が集まり, ポリカチオン¹¹⁾, カチオン性リポソーム¹²⁾やデンドリマー¹³⁾などとともに高分子ミセルがその一翼を担う。

1995 年に入り PEG/ポリカチオンブロックポリマーが DNA を含むポリアニオンとコンプレックスを形成し, 数十ナノメートルサイズのポリマーミセル(ポリイオンコンプレックス(PIC)ミセル)を形成することが片岡ら¹⁴⁾, Kavanov ら¹⁵⁾によって独立に見いだされた。PIC ミセル粒子は DNA と PEG/ポリカチオンブロック共重合体のポリカチオン部分がイオンコンプレックスを形成して水に不溶化するとともに PEG 鎖が表層にシェル層を形成するため, 水溶性で安定粒子となる。このときコアを形成する DNA が折りたたまれ(compaction), 100 ナノメートル程度の粒子を形成する¹⁶⁾(スキーム 1)。この PIC ミセルは上述した DDS の要求を見事にクリアーするだけでなく, シェル相が DNA 分解酵素耐性を向上させる期待がもたれる。

最近, さまざまな PIC ミセルの調製とその遺伝子キャリアーとしての評価が行われている。表 2 に最近報告されているポリカチオン共重合体をまとめる。ブロック共重合体は相分離性に優れるため, DNA との PIC ミセル形成能は高い。初期に報告された PEG-*b*-ポリリジン^{17), 18)}のほかに, ビニルポリマーとして PEG-*b*-ポリ(メタクリル酸 2-*N,N*-ジメチルアミノエチル)^{19)~22)}, その共重合体²³⁾, オリゴエ

スキーム 1

表 2 DNA キャリヤーとしてのポリイオンコンプレックスミセル

ポ リ マ ー	ポ リ マ ー
$\text{CH}_3\text{O}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-\text{b}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}(\text{COCHNH})_m-\text{H}$ $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_3^+$	$\text{CH}_3\text{O}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-\text{b}-\left[\begin{array}{c} (\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3))_x \cdots (\text{CH}_2\text{CH})_y \\ \text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2 \end{array} \right]_n-\text{H}$
$\text{CH}_3\text{O}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-\text{b}-(\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3))_m-\text{H}$ $\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$	$-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH})_x \cdots (\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N})_y \cdots (\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N})_z-$ $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$
$\text{lactose}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-\text{b}-(\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3))_m-\text{H}$ $\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$	$-(\text{COCHNH})_x \cdots (\text{COCHNH})_y-$ $(\text{CH}_2)_4\text{NH}_3^+ (\text{CH}_2)_4\text{NHCO}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-\text{lactose}$
$-(\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3))_n-\text{b}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}(\text{COCHNH})_m-\text{H}$ $\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2 \text{ COOCH}_2\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_x-$	$-(\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3))_m \cdots \text{polycation}$ $\text{CONH CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$
$\text{acetal}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-\text{b}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH})_m-\text{H}$

図3 シクロデキストリン含有 DNA ポリエオンコンプレックスとアダマンタン末端 PEG による自己組織化ミセル (ACS より許可を得て掲載)³⁸⁾

チレングリコールを側鎖に有するようなセグメント²²⁾, PEG-*b*-ポリエチレンイミン²⁴⁾などが報告されている。またごく最近, PEG-*b*-ポリ(γ -ベンジルアスパルテート)の側鎖アミノリシス反応により, さまざまなアミノ基を有する PEG-*b*-ポリカチオンブロック共重合体が合成され, これらアミノ基構造と PIC ミセルの形成・機能との相関に関して興味もたれる²⁵⁾。

また, 疎水化したポリイオンコンプレックスを PEG-*b*-ポリ乳酸²⁶⁾やプルロニックなどの親-疎水型ブロック共重合体ミセルで包むような複合体がつくられている。韓国のグループでは pH 7.4 $\rightarrow$ 5.0 でランダムコイルから α -ヘリックス構造に相転移するカチオン性ポリペプチド (KALA²⁷⁾) を 1 セグメントに有する PEG-*b*-KALA ブロックが合成され, PIC ミセルとして検討されている²⁸⁾。

グラフトポリマーによる PIC ミセル形成ではブロック共重合体に比べて相分離性の問題が残るものの, 比較的合成の容易さからポリエチレンイミン-*g*-PEG^{29)~33)}, ポリリジン-*g*-PEG³⁴⁾ など, 多数検討されている。

シェルを形成する水溶性高分子にはほとんど PEG が利用されているが, ポリ(メタクリル酸 2-ヒドロキシプロピル)³⁵⁾ や糖鎖³⁶⁾を使った例も報告されている。グラフト共重合体の場合, むしろ DNA 錯合体の交換速度が向上するため, 新しい SNP 診断等へと展開が期待されている³⁷⁾。

ユニークなアプローチとして, Davies ら³⁸⁾は β -シクロデキストリン含有ポリカチオンと DNA によるポリイオンコンプレックスをアダマンタン末端 PEG と混合させることによりコアにポリカチオン, シェルに PEG を有する自己組織化体を作製している。CD-アダマンタン相互作用がきわめて強く, 良好な粒子形成が確認されている。

スキーム 2 (K. Wooley 教授より許可を得て掲載)

図4 PLGA-*b*-オリゴ核酸ブロック共重合体による自己組織化ミセル (Elsevier より許可を得て掲載)⁴⁰⁾

Wooley らはシェルを架橋した SCK (Shell Cross-linked Knedels) を利用し, DNA キャリヤーとして検討を進めている (スキーム 2)³⁹⁾。

最近の傾向では PEG 末端にラクトース^{19), 29)}, 葉酸³⁰⁾やトランスフェリン³¹⁾など, リガンドを導入し, 細胞への取り込みの向上をねらった報告が多い。

PIC ミセルはアンチセンスなどの機能性オリゴ核酸のキャリヤーとしても期待されているものの, オリゴ核酸 (ODN) とのポリイオンコンプレックスは安定性の点で問題がある⁴⁰⁾。

Park ら⁴³⁾は PLGA-*b*-ODN 共重合体を合成し, その自己組織化ミセルを調製した。これは PLGA の生分解性を利用した新しい試みであるものの, シェル層がないため, ODN の酵素分解耐性が懸念される。柿澤らは PEG-*b*-ポリリジンの側鎖アミノ基を部分的に SS 架橋することにより ODN 含有 PIC ミセルを安定化させた⁴¹⁾。細胞内 (~ 3 mM) のグルタチオン濃度は細胞外 (~ 10 μ M) に比較して圧倒的に高いため, これと同濃度のグルタチオンにおいて内包した ODN が放出されることが確認されている。さらに柿澤らは PEG-*b*-ポリアスパラギン酸および ODN 共存下でリン酸カルシウムを調製すると 100 nm サイズの粒子を形成することを見いだした⁴²⁾。これはコアにリン酸カルシウムと ODN が存在し, シェルにブロック共重合体を有するコア-シェル型ナノ粒子である。細胞内カルシウム濃度は細胞外に比べて著しく低いため, 細胞内では CaPO_4 が溶解して ODN を放出するという。

Park らはきわめて最近, ブロックセグメント間を pH

図5 PEG-*b*-ポリアスパラギン酸および ODN 共存下におけるカルシウムリン酸法によって形成した自己組織化ナノ粒子 (ACS より許可を得て掲載)⁴²⁾

図6 ブロック鎖間に切断部位を有する PEG-*b*-ODN 共重合体 PIC ミセル (ACS より許可を得て掲載)⁴³⁾

図7 PNIPAM-*g*-ODN の自己組織化粒子とアンチセンス活性 (日本化学会より許可を得て掲載)⁴⁶⁾

図8 親-疎水ブロック共重合体からなるポリマーソームの例 (AAAS より許可を得て掲載)⁴⁹⁾

4.7 で切断しうるホスホラアミデート基で結合した PEG-*b*-OND の合成を報告した⁴³⁾。筆者らは独立にエステル結合⁴⁴⁾および SS 結合⁴⁵⁾を有する PEG-*b*-ODN ブロック共重合体 PIC ミセルの調製を進めている。

村田ら⁴⁶⁾は代表的感温性高分子であるポリ(イソプロピルアクリルアミド) (PNIPAM)-*g*-ODN 共重合体を合成しアンチセンス活性を調べた。PNIPAM に結合した ODN は相転移点以上で高いヌクレアーゼ耐性を示し、相転移点以下ではアンチセンス効果を示すことが確認された。

このように次世代の治療法として着目されている PIC ミセルによる遺伝子治療が上述のウイルスベクター問題とも相まって、着実に進展を遂げてきている。

ポリマーソーム

自己組織化高分子ミセルが遺伝子治療を含む DDS の分野でめざましい展開を遂げていることは、高分子化学の新たな展開として期待される。最近、ブロック共重合体の自己組織化による新しいベシクルの調製とその特性に関して報告が増えつつある。

ナノサイズの中空型粒子は内空に物質を埋包可能なナノカプセルとして有用である。このようなナノカプセルにはリン脂質 2 分子膜によるベシクル (リポソーム) が有名で

ある。しかしながらリポソームは低分子会合体のため、目的によってはそのカプセルとしての安定性が十分でない。リポソーム安定化のため、2 分子膜の重合やポリマーによる安定化などが試みられている。

1995 年に Eisenberg らが両親媒性ブロック共重合体でベシクル構造が形成されることを報告して以来⁴⁷⁾、低分子ベシクルに比較した高分子ベシクル (ポリマーソーム) の研究例が増加している⁴⁸⁾。

Hammer ら⁴⁹⁾はポリオキシエチレン-*b*-ポリエチレンブロック共重合体 (EO₄₀/EE₃₇) で形成されるポリマーソームの安定性が低分子リポソームに比べて 1 桁以上大きく、またその膜透過能は少なくとも 1/10 以下になっていることを報告している。木村ら⁵⁰⁾はヘリックス形成ペプチドである Gramicidin A (15mer) と PEG (MW=600) のブロック共重合体がペプチドの二重ヘリックスを通してベシクルを形成することを報告した。ペプトソームと命名されるこのナノカプセルは膜構造がポリペプチド環境であるため、新たな機能が期待される。

さらに最近、ポリイオンコンプレックスによるベシクル⁵¹⁾やポリマーソーム形成後にさらにガンマ線架橋によって安定化する PEG-*b*-ポリイソプレン⁵²⁾、ABA トリブロッ

クによるポリマーソーム⁵³⁾など、さまざまな例が報告されている。

おわりに

以上述べてきたように、多相系の高分子材料がきわめて精密に分子設計されるようになり、その自己組織化を巧みに制御したさまざまな高分子ミセルが設計され、かつナノバイオ領域において大きな展開が期待されている。このような高分子科学を基盤とした新たな産業創出の実現を祈念して本稿を閉じる。

文 献

- 1) S. Newman: *J. Appl. Polym. Sci.*, **6**, 515 (1962)
- 2) 長崎幸夫: 高分子, **48**, 605 (1999)
- 3) 森島洋太郎: 高分子, **46**, 128 (1997)
- 4) 野瀬卓平: 高分子, **48**, 432 (1999)
- 5) 片岡一則: 高分子, **46**, 843 (1997)
- 6) M. Yokoyama, T. Okano, Y. Sakurai, H. Ekimoto, C. Shibazaki, K. Kataoka: *Cancer Res.*, **51**(6), 3229 (1991)
- 7) G. Kwon (編): 高分子ミセル特集号, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **54**, 167 (2002)
- 8) 日経バイオビジネス, 2003年4月号, p. 75 を改訂
- 9) 長崎幸夫: ライフサイエンスに貢献する高分子材料, 図解, 高分子材料最前線, 尾崎邦宏, 松浦一雄編, 工業調査会, 東京, 2002, pp. 230-260
- 10) 日経バイオビジネス, 2003年4月号, p. 86
- 11) a) R. Kircheis, L. Wightman, E. Wagner: *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **53**(3), 341 (2001); b) C. Uhrek, W. Wels: *ibid.*, **44**(2-3), 153 (2000)
- 12) a) C.-H. Lee, Y.-H. Ni, C.-C. Chen, C.-K. Chou, F.-H. Chang: *Biochim. Biophys. Acta*, **1611**(1-2), 55 (2003); b) P. B. Davis, A. G. Ziady: *Gene Therapy and Regulation*, **2**(1), 77 (2002)
- 13) P. K. Tripathi, A. J. Khopade, T. Dutta, R. B. Umamaheshwari, S. Jain, D. K. Saraf, N. K. Jain: *Ind. J. Pharm. Sci.*, **65**(1), 15 (2003)
- 14) A. Harada, K. Kataoka: *Macromolecules*, **28**, 5294 (1995)
- 15) A. V. Kabanov, S. V. Vinogradov, Y. G. Suzdaltseva, V. Y. Alakhov: *Bioconj. Chem.*, **6**, 639 (1995)
- 16) K. Itaka, A. Harada, K. Nakamura, H. Kawaguchi, K. Kataoka: *Biomacromolecules*, **3**(4), 841 (2002)
- 17) M. Harada-Shiba, K. Yamauchi, A. Harada, I. Takamisawa, K. Shimokado, K. Kataoka: *Gene Therapy*, **9**(6), 407 (2002)
- 18) M. A. Wolfert, E. H. Schacht, V. Toncheva, K. Ulbrich, O. Nazarova, L. W. Seymour: *Human Gene Therapy*, **7**(17), 2123 (1996)
- 19) K. Kataoka, A. Harada, D. Wakebayashi, Y. Nagasaki: *Macromolecules*, **32**(20), 6892 (1999)
- 20) P. Dubruel, J. De Strycker, P. Westbroek, K. Bracke, E. Temmerman, J. Vandervoort, A. Ludwig, E. Schacht: *Polym. Int.*, **51**(10), 948 (2002)
- 21) A. Caputo, M. Betti, G. Altavilla, A. Bonaccorsi, C. Boarini, M. Marchisio, S. Butto, K. Sparnacci, M. Laus, L. Tondelli, B. Ensoli: *Vaccine*, **20**(17-18), 2303 (2002)
- 22) M. C. Deshpande, M. C. Garnett, M. Vamvakaki, L. Bailey, S. P. Armes, S. Stolnik: *J. Controlled Release*, **81**(1-2), 185 (2002)
- 23) D. W. Lim, Y. I. Yeom, T. G. Park: *Bioconj. Chem.*, **11**(5), 688 (2000)
- 24) Y. Akiyama, A. Harada, Y. Nagasaki, K. Kataoka: *Macromolecules*, **33**, 5841 (2000)
- 25) 金山直樹, 位高啓史, 福島重人, 原田敦志, 片岡一則: 第3回遺伝子・デリバリーシンポジウム, pp. 2-14, 2003年5月9日
- 26) Y. K. Luu, K. Kim, B. S. Hsiao, B. Chu, M. Hadjiargyrou: *J. Controlled Release*, **89**(2), 341 (2003)
- 27) T. B. Wyman, F. Nicol, O. Zelphati, P. V. Scaria, C. Plank, and F. C. Szoka, Jr.: *Biochemistry*, **36**, 3008 (1997)
- 28) H. Lee, J. H. Jeong, T. G. Park: *J. Controlled Release*, **76**(1-2), 183 (2001)
- 29) H.-K. Nguyen, P. Lemieux, S. V. Vinogradov, C. L. Gebhart, N. Guerin, G. Paradis, T. K. Bronich, V. Y. Alakhov, A. V. Kabanov: *Gene Therapy*, **7**(2), 126
- 30) W. Suh, S.-O. Han, L. Yu, S. W. Kim: *Molecular Therapy*, **6**(5), 664 (2002)
- 31) M. Kurs, G. F. Walker, V. Roessler, M. Ogris, W. Roedel, R. Kircheis, E. Wagner: *Bioconj. Chem.*, **14**(1), 222 (2003)
- 32) W. Suh, S.-O. Han, L. Yu, S. W. Kim: *Molecular Therapy*, **6**(5), 664 (2002)
- 33) A. Kichler, M. Chillon, C. Leborgne, O. Danos, B. Frisch: *Journal of Controlled Release*, **81**(3), 379 (2002)
- 34) Y. H. Choi, F. Liu, J. S. Park, S. W. Kim: *Bioconj. Chem.*, **9**(6), 708 (1998)
- 35) C. Konak, L. Mrkvickova, O. Nazarova, K. Ulbrich: *Supramolecular Science*, **5**(1-2), 67 (1998)
- 36) A. Maruyama, M. Katoh, T. Ishihara, T. Akaike: *Bioconj. Chem.*, **8**(1), 3 (1997)
- 37) W. J. Kim, T. Akaike, A. Maruyama: *J. Am. Chem. Soc.*, **124**(43), 12676 (2002)
- 38) S. H. Pun, M. E. Davis: *Bioconj. Chem.*, **13**(3), 630 (2002)
- 39) K. B. Thurmond, E. E. Remsen, T. Kowalewski, K. L. Wooley: *Nucl. Acids Res.*, **27**(14), 2966 (1999)
- 40) M. C. Deshpande, M. C. Garnett, M. Vamvakaki, L. Bailey, S. P. Armes, S. Stolnik: *J. Controlled Release*, **81**(1-2), 185 (2002)
- 41) Y. Kakizawa, A. Harada, K. Kataoka: *Biomacromolecules*, **2**(2), 491 (2001)
- 42) Y. Kakizawa, K. Kataoka: *Langmuir*, **18**(12), 4539 (2002)
- 43) J. H. Jeong, S. W. Kim, T. G. Park: *Bioconj. Chem.*, **14**, 473 (2003)
- 44) M. Ohishi, S. Sakaki, Y. Nagasaki, K. Kataoka, *Biomacromolecules*, in press.
- 45) 葉山哲也, 秋山好嗣, 片岡一則, 長崎幸夫: 第52回高分子学会年次大会要旨集, III Pa173 (2003)
- 46) M. Murata, W. Kaku, T. Anada, N. Soh, Y. Katayama, M. Maeda: *Chem. Lett.*, **32**, No. 3 (2003)
- 47) L. Zhang, A. Eisenberg: *Science*, **268**, 1728 (1995)
- 48) H.-G. Dobereiner: *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, **5**, 256 (2000)
- 49) B. M. Discher, Y.-Y. Won, D. S. Ege, J. C.-M. Lee, F. S. Bates, D. E. Discher, D. A. Hammer: *Science*, **284**, 1143 (1999)
- 50) S. Kimura, D.-H. Kim, J. Sugiyama, Y. Imanishi: *Langmuir*, **15**, 4461 (1999)
- 51) S. Schrage, R. Sigel, H. Schlaad: *Macromolecules*, **36**(5), 1417 (2003)
- 52) M. Maskos, J. R. Harris: *Macromol. Rapid Commun.*, **22**, 271 (2001)
- 53) C. Nardin, T. Hirt, J. Leukel, W. Meier: *Langmuir*, **16**, 1035 (2000)