

ポリ乳酸の合成とその酵素分解性

堤 主計* 桐間 和輝* 岩崎 未来* 中山 享* 塩見 正樹**

Synthesis and Enzymatic Degradation of Poly(L-lactide)

Chikara TSUTSUMI* Kazuki KIRIMA* Miku IWASAKI* Susumu NAKAYAMA* Masaki SHIOMI**

Poly(L-lactide) [poly(L-LA)] is a biocompatible and biodegradable semicrystalline polymer obtained from starch in high yield, and depending for the degradability on crystallinity or a molecular weight is known. Polylactide (PLA) is mainly classified into three types, as follows. Besides poly(L-LA), there are poly(D-LA) or poly(D,L-LA) which are synthesized by ring-opening polymerization of D-lactide or D,L-lactide. In this work, the enzymatic degradation test was conducted using the proteinase K which can be degraded poly(L-LA), and the influence physical properties have on the degradability was studied. The physical properties of synthesized poly(L-LA) were evaluated with DSC, XRD, and FT-IR, and the surface configuration of a sample after degradation was observed by SEM. It was confirmed that the sample with a high degree of crystallinity was difficult to be degraded as a result of the degradation test.

1. 緒言

プラスチックは、軽量で加工しやすく耐久性を有していることから、私たちの生活で広く使われている。生活に欠かせない材料であるが、約 100 年前にプラスチックの生産が工業化され、世界各国で生産されるようになった現在、世界中でプラスチック問題が深刻になっている。3R 活動により一部循環利用されているが、焼却や埋立などの処分のほか、自然界への拡散といった問題が顕著になっている。従来の汎用プラスチックは石油由来のため、焼却時には温室効果ガスの発生により地球温暖化の原因になり、埋立は環境汚染への起因となっている^{[1], [2]}。ほか、石油資源の枯渇といった問題もあるが、近年問題視されているのが海洋汚染問題である。回収されないプラスチックは、河川などを經由して大量に海に流出しており、その量は年間 800 万トン以上といわれている。

このような問題を解決するために生分解性ポリマーが以前から研究されており、微生物系、天然高分子利用系、化学合成系の 3 種類に大別される。このうち、化学合成によって作られる高分子は分子構造設計が容易で安価に製造される材料として注目されており、中でも、ポリ乳酸は生体適合性、生

分解性に優れ、さらに分解後の産物が水と二酸化炭素であることから安全で自然に優しい材料である。ただし、耐熱性、耐衝撃性が低いといった欠点があるため、汎用プラスチックとのブレンド体の作製や他高分子との共重合体の合成が行われている。ブレンド体はフィルムやレジ袋などに利用されている。ポリ乳酸自体はバイオマス由来の高分子材料であるが、ブレンド体は石油由来のプラスチックを多く含んでいることから、完全な分解性を有する環境循環型高分子材料を実用化するために研究が行われている^[3]。ポリ乳酸は天然に存在する乳酸を構成単位とする高分子材料で生体適合性や加水分解性を有することから手術用接合材などの医療材料^{[4]-[6]}や医薬品包装材料^{[7]-[9]}として研究や実用化されている。

物性改善のために、ポリ乳酸の原料である L-ラクチド (L-LA) と共重合させるモノマーとして環状化合物を用い共重合体を合成し、分解性のほかに熱的特性や機械的特性などの物性を評価してきた^{[10]-[14]}。また、共重合体の合成において、分子鎖伸長を制御するためにアルコールが開始剤として用いられている^{[15]-[17]}。本研究では、重合に使用する開始剤が分解性に及ぼす影響を調べるために開始剤を用いてポリ乳酸を合成し、その分解性について比較検討した。

令和 5 年 9 月 1 日受付 (Received Sep. 1, 2023)

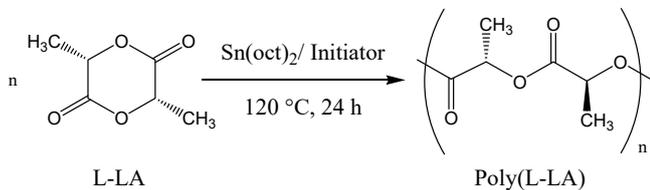
*新居浜工業高等専門学校生物応用化学科 (Department of Applied Chemistry and Biotechnology, National Institute of Technology (KOSEN), Niihama College, Niihama, 792-8580, Japan)

**新居浜工業高等専門学校エンジニアリングデザイン教育センター (Engineering design education center, National Institute of Technology (KOSEN), Niihama College, Niihama, 792-8580, Japan)

2. 実験

2-1 ポリ乳酸の合成

100 ml のナス型フラスコに触媒であるオクチル酸スズ ($\text{Sn}(\text{oct})_2$) (SIGMA-ALDRICH) と開始剤を加え、L-LA (東京化成工業株) を所定量加えた。回転子を入れ、所定量のベンゼン (富士フィルム和光純薬株) を加え、約 100°C のオイルバス中でベンゼンを留去後、 120°C に温度を上げ 24 時間重合させた (Scheme 1)。モノマー (M)、開始剤 (I)、触媒 (C)、の仕込比 (mol 比) は 400/3/1、600/3/1、800/3/1、800/2/1、1000/3/1 (M/I/C) の 5 つの条件で重合を行った。開始剤 (全て、東京化成工業株) として以下の 4 種類を用いた (Fig. 1)。重合後、反応溶液を常温まで冷却し、クロロホルム (株トクヤマ) に溶解させ、メタノール (日本アルコール販売株) 中に沈殿させた。沈殿物を 3 時間、 60°C で真空乾燥させ、ポリマーを GPC により分子量を求めた。



Scheme 1 Ring-opening polymerization of L-LA using $\text{Sn}(\text{oct})_2$.

(1 価アルコール)

ベンジルアルコール (BenOH)、2-フェニル-2-プロパノール (2P2Pr)、チモール (TY)

(2 価アルコール)

2,2-ジメチル-1,3-プロパンジオール (22DM13PD)

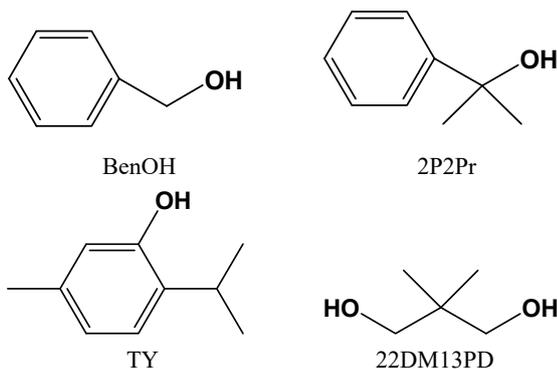


Fig. 1 Chemical structure of mono and dihydric alcohol using as initiator.

2-2 フィルムの作製

分解試験ならびに物性測定に使用するフィルムは、ソルベントキャスト法により厚さ約 $120\ \mu\text{m}$ のフィルムを作製した。ソルベントキャスト法によるフィルムは、以下の方法で作製した。ポリマー 1.0 g をクロロホルム 15 ml に溶解させ、この溶液をテフロンシャーレ ($\phi 100$) に流し込み、一晚ドラフト中に放置し溶媒を除去することでフィルムを作製した。この

フィルムをプラスチック離型剤で内面をスプレーしたステンレス板 ($150 \times 200 \times 1\ \text{mm}$) 2 枚で挟み、小型熱プレス機 (冷却機能付) により所定の温度で $100 \pm 10\ \mu\text{m}$ のフィルム厚になるようにプレス成型した。

2-3 ポリ乳酸フィルムの酵素分解試験

サンプル瓶 (50 ml 容) に 30 mM トリシン緩衝溶液 (pH 8.0) を 30 ml 入れ、ポリマーの重量をもとに酵素活性が 1 U/mg polymer になるように分解酵素であるプロティナーゼ K を溶解させた。次に、約 30 mg のフィルム ($100 \pm 10\ \mu\text{m}$ 厚) をポリエチレンメッシュシート (網目 0.761 mm) に封じ込め、酵素溶液に浸けた。このサンプル瓶を 37°C に設定した恒温振とう槽にて 20 時間振とう (120 rpm) させた後、サンプルを取り出して水洗し、水分を十分に取り除いた後、真空乾燥器にて真空乾燥を 3 時間行った。乾燥後のサンプルの重量を測定し残存重量率を求めた。酵素活性を維持するために、酵素溶液は 40 時間毎に交換し、同様の操作を繰り返し行った。

2-4 高分子の諸物性の測定

分子量 M_n と分子量分布 M_w/M_n は、日本分光株 GPC システム (ポンプ PU-4180、示差屈折計 (RI) 検出器 RI-4030、カラムオープン CO-4060、オートサンプラー AS-4150) を用いて RI 検出器により、カラム温度 40°C で測定した。溶離液は HPLC 用クロロホルム (富士フィルム和光純薬株) とし、流速 1 ml/min とした。分離用カラムとガードカラムはそれぞれ Shodex 製の K-804L と K-G を用いた。 M_n は標準ポリスチレンで作成した検量線から求めた。

熱的特性 (T_m 、 ΔH_m 、 T_g) は、株リガクの示差走査熱量計 Thermo Plus 2/DSC8230 (以下、DSC) を用いて測定した。まず、成型したフィルムをアルミパンに入れ測定サンプルを作製した。DSC の感熱板の左側にアルミナ標準サンプル、右側に測定サンプルを置き、液体窒素充填容器をかぶせて窒素ガスを流し、50 ml/min で 3 分ガス置換を行った。昇温速度 $10^\circ\text{C}/\text{min}$ で 200°C まで加熱した 1st ヒーティングの結果から融点 (T_m)、融解熱 (ΔH_m) を決定した。同条件の 2nd ヒーティングから、ガラス転移点 (T_g) の値を求めた。また、測定した ΔH_m から結晶化度の大きさを求め、開始剤の有無によるその違いを評価した。

熱的特性以外で結晶状態を評価するために、結晶化度を以下の装置により求めた。結晶化度は株リガクの X 線回折装置 MiniFlexII (以下、XRD) により測定し評価した。 2θ のスキャン範囲は 8° から 35° で、スキャン速度は $2^\circ/\text{min}$ で測定した。分子構造や状態は全反射法フーリエ変換赤外分光光度計 FT-IR 4100 (日本分光株) によりスペクトルを求め評価した。

分解後のサンプル表面を観察し、酵素による分解性を評価するために、走査型電子顕微鏡 (Scanning Electron Microscope : SEM) (JSM-6510LA) でフィルム表面を観察した。

3. 結果および考察

3-1 ポリ乳酸の合成

ポリ乳酸の合成において開始剤となる1価あるいは2価アルコールの重合への影響を検討した。M/I/C比を800/2/1とし、トルエン溶媒中で120℃、24時間重合を行った。1価アルコールとしてBenOH、2P2Pr、TYを、そして、2価アルコールとして22DM13PDを用いた。これら重合結果をFig. 2に示す。開始剤としてBenOHを使用して合成したpoly(L-LA)の分子量が最も高く 8.1×10^4 で、次に2P2Prで 7.7×10^4 となり、ヒドロキシ基以外にアルキル基を有するTYを用いて重合した場合、分子量はやや低くなる傾向であった。収率は81%から88%の範囲内であり、大きな差はみられなかった。2価アルコールである22DM13PDを用いて合成したpoly(L-LA)は分子量 7.1×10^4 でTYとほぼ同じ結果となった。オクチル酸スズ触媒を用いたL-LAの重合では、触媒とモノマーが配位した後にアルコールがその間に入り込むことで開環が起こり分子鎖が伸長すると考えられており、このアルコールの構造が分子鎖伸長に影響を及ぼしていると考えられる。したがって、1価アルコールの場合、ヒドロキシ基周辺に立体障害となる置換基が分子鎖伸長に影響を及ぼしていると考えられ、本実験において、その影響が小さいBenOHで分子量が高くなったと推察される。2価アルコールでは、同様に立体障害のほかにヒドロキシ基間の距離が重合に影響していると思われる、22DM13PDでは2つのメチル基の存在と距離間がやや接近していることからやや分子量が低くなったと考えられる。

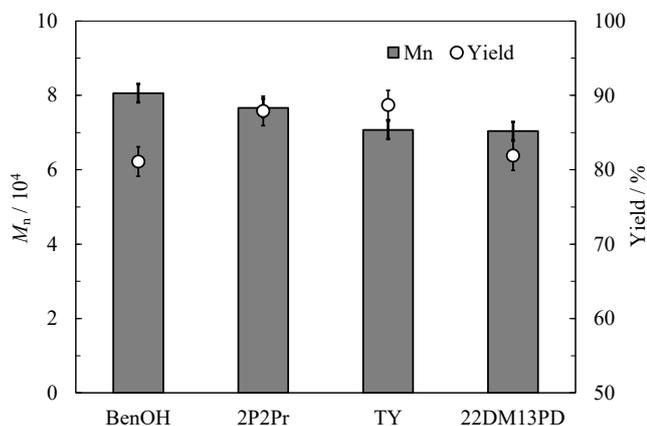


Fig. 2 Effect of mono and dihydric alcohol as initiator for polymerization of L-LA at a monomer/initiator/catalyst molar ratio of 800/2/1 in toluene at 120 °C for 24 h.

分子量がやや低い結果となったTYを用いた重合において、M/I比を変えることで分子量がどの程度変化するか調べた。触媒量は上記と同じ比率とした。その結果をFig. 3に示す。M/I比が333の時に分子量が最も高く 7.1×10^4 となり、Fig. 2に示すM/I比400と同じ結果となった。また、M/I比133の時に分子量は最も低く 3.8×10^4 となり、M/I比267まで一定

の割合で増加傾向がみられ、それ以降では緩やかな増加となった。限られたM/I比の範囲内において分子量とM/I比はほぼ比例関係にあるということも分かった。M/I比が200以下の領域では、開始剤の比率が高いためL-LA-触媒-開始剤の配位には影響が低いため分子量には大きな差がみられなかったと考えられる。M/I比267以上では、開始剤の比率が低くなるため開始剤のヒドロニウムイオン活性に影響を受けやすくなり、分子鎖伸長に影響が生じやすくなったと考えられる。収率に関しては、M/I比に関係なく大きな差はみられず、85%程度であった。

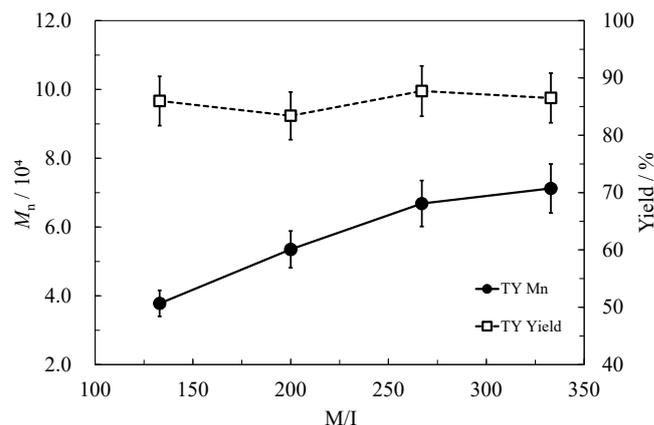


Fig. 3 Relationship between monomer/initiator ratio and yield or M_n for polymerization of L-LA with TY as initiator.

3-2 ポリ乳酸フィルムの酵素分解性

合成したpoly(L-LA)の酵素分解試験は、2P2PrやTYを開始剤として合成した重合体と開始剤なしで合成したサンプルを用いて37℃、pH 8.0でPTKを用いて行った。分解試験には小型熱プレス機で成型したフィルムを用いた。その結果をFig. 4に示す。PTKはpoly(L-LA)を分解する酵素として知られており、開始剤なしで合成したpoly(L-LA)は160時間で完全に分解されたが、開始剤を用いて合成したサンプルは200時間においてもわずか5%程度しか分解されなかった。poly(L-LA)は一般に結晶性の高いポリマーとして知られており、その分解性は分子量にも依存傾向がある。本実験では、分子量の差が2万程度あり、開始剤なしで合成したサンプルは 10.09×10^4 と比較的高い分子量であったにもかかわらず、分解速度は比較的速かった。それに対して、芳香環を有する開始剤で合成したサンプルは分解が緩慢であり、加水分解試験で見られるような重量減少であった。これらの結果から、この実験においては分子量よりも結晶化度が分解に影響を及ぼしていると考えられる^[18]。

Fig. 5にpoly(L-LA)フィルムのPTKによる140時間分解後のサンプルの表面を電子顕微鏡で観察した倍率500倍の結果を示す。Fig. 5(a)は2P2Prを開始剤として合成したpoly(L-LA)の表面の状態であるが、このフィルムはわずか5%しか分解されていないため、表面は凹凸のないスムーズな状態で

あった。一方、開始剤を用いないで合成した poly(L-LA)は 81%重量減少していたため、表面には無数の小孔や溝が確認されており、酵素による分解を確認することができた。

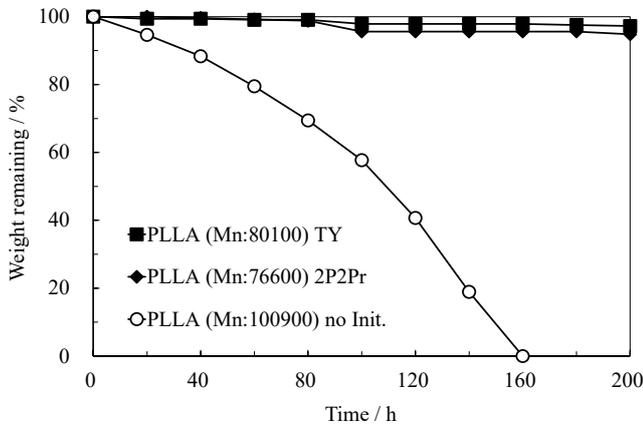


Fig. 4 Enzymatic degradation for poly(L-LA) using proteinase K in Tricine buffer (pH8.0) at 37 °C.

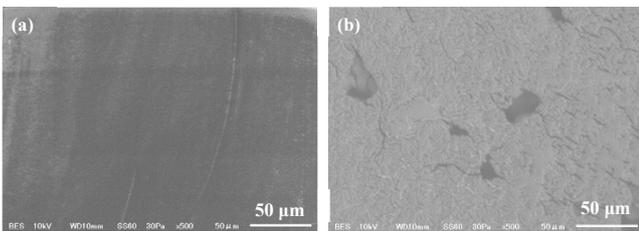


Fig. 5 SEM images of poly(L-LA) samples after enzymatic degradation by proteinase K at 140 h, for samples (a) with 2P2Pr (mass loss 5%) and (b) without initiator (mass loss 81%).

3-3 ポリ乳酸フィルムの物性評価

酵素分解試験において、芳香族環を有する開始剤の有無による poly(L-LA)の分解性を評価するために、これらフィルムの各種物性を測定した。測定には、開始剤を用いないで合成した poly(L-LA)と 2P2Pr を開始剤として合成した poly(L-LA)を用いた。Fig. 6 に DSC による 1st ヒーティングの測定曲線を示す。各サンプルの T_m と ΔH_m はそれぞれ 176.6°C、40.0 J/g と 178.7°C、66.2 J/g であり、図に示すように 2P2Pr で合成した poly(L-LA)の方がやや高温側にピークが観測されていることがわかる。また、結晶性の大きさを示す ΔH_m は 2P2Pr を用いたサンプルは明らかに大きく、結晶性が高いことを示している。poly(L-LA)の結晶性の大きさは以下の式から求められる^[19]。この式で、 ΔH_c は poly(L-LA)の結晶化熱を示すが、このフィルムサンプルでは 100°C 付近にその発熱ピークは検出されていないことから、ここでは 0 J/g とする。また、 ΔH_m^0 は完全に結晶化された poly(L-LA)の理論値を示しており、135 J/g がその値として報告されており^[20]、その値を用いた。

$$X_{c,DSC}(\%) = \frac{\Delta H_m - \Delta H_c}{\Delta H_m^0} \times 100$$

上記式から求められた開始剤なしと 2P2Pr で合成したサンプルの結晶化度はそれぞれ 29.6%と 49.0%となり、開始剤なしのサンプルでも結晶性は高いが、2P2Pr の開始剤を用いることで明らかに結晶性が高くなっていることがわかった。芳香族環は π 電子を有する電子密度の高い分子構造をしており、これら性質から分子間において、 π - π スタッキング相互作用が形成されやすいことが報告されている^[21]。2P2Pr を開始剤として合成された poly(L-LA)は芳香族環どうしの上記相互作用のほかに L-LA 中のエステル結合と芳香族との相互作用が形成されやすくなるため、分子間相互作用が高くなり結晶性が大きく向上したものと考えられる。2nd ヒーティングから得られた T_g は開始剤なしのサンプルで 59.9°C、2P2Pr で合成したサンプルは 60.5 °C となり大きな差はなかったが、非晶領域の流動化においても芳香族環の効果が少しみられた。

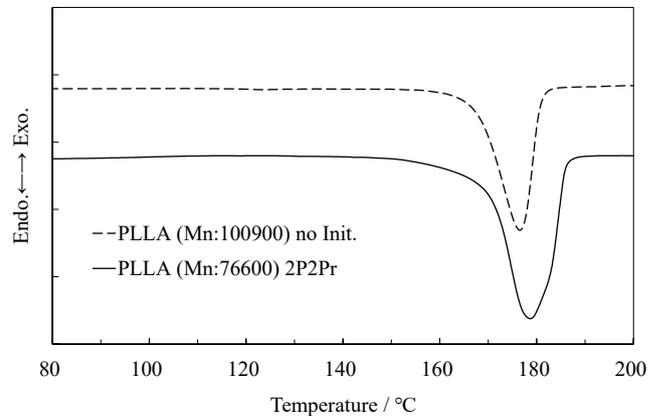


Fig. 6 DSC thermograms obtained during first heating of poly(L-LA) films.

次に、ポリマーフィルムを融解させずに結晶化度を求めるために XRD 測定を行い、比較検討した。XRD のスペクトルは、結晶化度だけではなく面間隔に関する結晶の情報や結晶サイズの大きさを得ることができる。ポリ乳酸フィルムの測定結果を Fig. 7 に示す。ポリ乳酸は主な 2 つのピーク (2θ : 16.7° 付近、19.1° 付近) を検出していたが、 2θ にわずかな差異がみられた。2P2Pr を開始剤として合成した poly(L-LA)は、開始剤を用いないで合成したサンプルよりも 2 つのピークのスキャン角度 2θ は +1°~+2° シフトしており、ブラッグの式 (Bragg's formula) より面間隔が小さくなっているといえる。これは前述の π - π スタッキング相互作用による影響であると考えられる。また、サンプルの結晶化度は、全ピーク面積 (結晶成分のピーク面積+非晶成分のハローパターン面積) に対する結晶成分のピーク面積の比から求められ、2P2Pr 含有の poly(L-LA)の結晶化度は 45.3%であったのに対し、開始剤無しで合成したサンプルは 30.0%と大きな差がみられた。これら数値は、上記の DSC 測定から求められた値に近く、相関があることが確認できた。

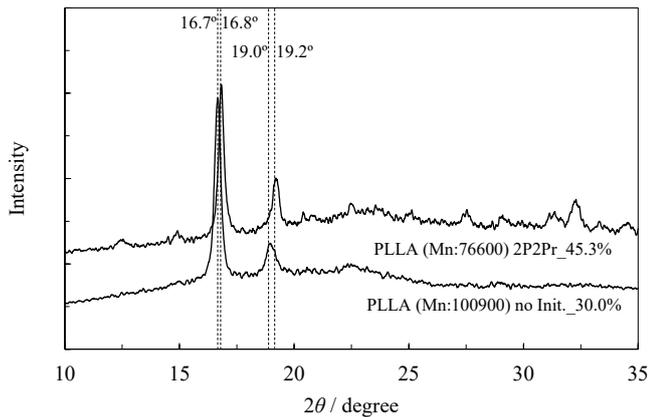


Fig. 7 XRD patterns obtained from poly(L-LA) films.

ポリマーの分子構造の評価はDSCやXRDによる方法があるが、一般的な簡単な手法として赤外分光法が用いられている。本実験ではFT-IR分光装置により官能基の種類や水素結合による相互作用などを観測し、ポリ乳酸フィルムにおける構造の状態を評価した。今回の測定では、分子間相互作用の影響が強くみられる分子中のカルボニル基について比較検討した。測定の結果、Fig. 8に示すように、 $1800\sim 1700\text{ cm}^{-1}$ の領域において、L-LA由来のカルボニル基の伸縮振動を確認することができた。poly(L-LA)のカルボニル基の伸縮振動は、 1757 cm^{-1} に最大の吸光度が検出され、 1777 cm^{-1} 、 1759 cm^{-1} 、 1749 cm^{-1} において、ピークに膨らみがみられた。 1777 cm^{-1} と 1757 cm^{-1} のピークは、非晶性成分のカルボニル基の伸縮振動に由来するピークであることが報告されており、それ以外のピークは結晶成分に由来することが明らかにされている^[22]、^[23]。この2つの結晶成分はpoly(L-LA)の α 型結晶構造に由来する^[22]。開始剤を用いないで合成したpoly(L-LA)は 1749 cm^{-1} で目立ったピークの膨らみはみられなかったが、2P2Prを開始剤として合成したサンプルはこの波数において、顕著なピークの膨らみを確認することができた。したがって、FT-IRの測定結果からも2P2Pr含有のpoly(L-LA)は分子間相互作用により結晶化しやすい構造を有していることが考えられる。

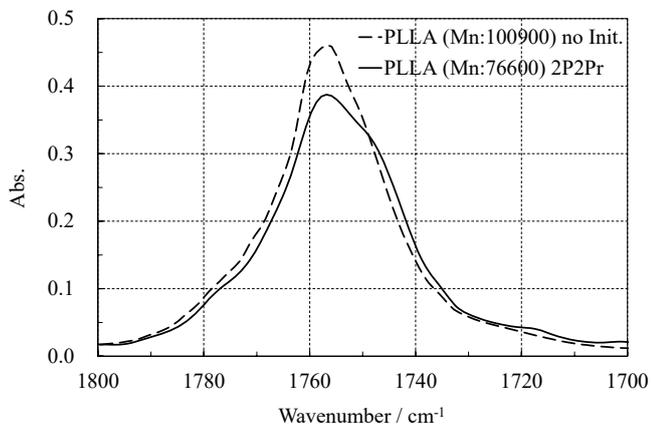


Fig. 8 ATR FT-IR spectra of poly(L-LA) films over the ranges of 1700 to 1800 cm^{-1} .

4. 結論

ポリ乳酸の合成において、開始剤として BenOH、2P2Pr、TY、22DM13PD を用い L-LA の開環重合を行ったところ、1価アルコールでヒドロキシ基周辺に立体障害となる置換基が存在しない BenOH を用いた時に最も分子量が高くなった。同じ1価アルコールである2P2Pr、TYはヒドロキシ基周辺に重合において立体障害と考えられるアルキル基の存在のため、BenOHよりも分子量がやや低くなる傾向がみられた。2価アルコールである22DM13PDを用いて重合した際、ヒドロキシ基近傍のメチル基のほか、ヒドロキシ基間の距離が接近していることが要因と考えられることから分子量は最も低くなった。また、M/I比はpoly(L-LA)の分子量と相関性があった。

PTKによる酵素分解試験では、開始剤を用いず合成したpoly(L-LA)は160時間で完全に分解されたのに対し、2P2PrやTYを用いたサンプルは200時間で5%程度しか分解されなかった。

分解性に影響を及ぼしたと考えられる開始剤含有のpoly(L-LA)の構造を評価するために、DSC、XRD、FT-IRによる測定を行い、物性を比較検討した。DSC測定の結果から、2P2Prで合成したpoly(L-LA)は開始剤なしのサンプルよりもやや高温側に融点を示す吸熱ピークが観測され、結晶性の大きさを示す ΔH_m は2P2Pr含有のサンプルは明らかに大きく、結晶性が高くなっていることがわかった。また、XRD測定から求めた結晶化度もDSC結果同様に2P2Pr含有のpoly(L-LA)が明らかに高い値を示していた。さらに、FT-IRスペクトルにおいて、2P2Prに起因すると考えられる分子間相互作用や波数から想定される結晶構造を確認することができた。

参考文献

- [1] 望月政嗣, 生分解性ポリマーのはなし, 日刊工業新聞社 (1995)
- [2] 土肥義治, 生分解性プラスチックのおはなし, 財団法人日本規格協会 (2001)
- [3] 土肥義治, 生分解性プラスチックハンドブック, 株式会社エヌ・ティー・エス (1995)
- [4] A. A. Puchkov, N. G. Sedush, A. I. Buzin, T. N. Bozin, A. V. Bakirov, R. S. Borisov, S. N. Chvalun, *Polymer*, 264 (2023) 125573
- [5] D. F. Gibbons, C. L. Van. Kampen, Y. Kawamoto, H. Kobayashi, S. Hara, N. Tomizawa, H. V. Mendenhall, *Combined meeting European Orthopaedic Research Society and British Orthopaedic Research Society*, 4, 72 (1994)
- [6] M. Therin, P. Christel, S. Li, H. Garreau, M. Vert, *Biomaterials*, 13 (9), 594-600 (1992)
- [7] A. M. Maadani, E. Salahinejad, *J. Controlled. Release*, 351, 1-7 (2022)

- [8] J. Y. Bae, R. Liu, M. S. Heo, E. J. Seo, I. H. Jang, J. H. Kim, I. Kim, *J. Controlled. Release*, 259 (2017), Page e55
- [9] M. Balk, M. Behl, C. Wischke, J. Zotzmann, A. Lendlein, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 107, 136-152 (2016)
- [10] C. Tsutsumi, S. Nakayama, Y. Matsubara, Y. Nakayama, T. Shiono, *React. Funct. Polym.*, 173, 1-13 (2022) Article number 105148
- [11] C. Tsutsumi, S. Manabe, S. Nakayama, Y. Nakayama, T. Shiono, *Sci. Rep.*, 9 (1), 1-14 (2019) Article number 16326
- [12] C. Tsutsumi, T. Hara, K. Oro, K. Hata, Y. Nakayama, T. Shiono, *Green Chem.*, 14 (4), 1211-1219 (2012)
- [13] C. Tsutsumi, N. Fukukawa, J. Sakafuji, K. Oro, K. Hata, Y. Nakayama, T. Shiono, *J. Appl. Polym. Sci.*, 121, 1431-1441 (2011)
- [14] C. Tsutsumi, J. Sakafuji, M. Okada, K. Oro, K. Hata, *J. Mat. Sci.*, 44 (13), 3533-3541 (2009)
- [15] Y. Nakayama, K. Aihara, H. Yamanishi, H. Fukuoka, R. Tanaka, Z. Cai, T. Shiono, *J. Polym. Sci., A, Polym. Chem.*, 53, 489-495 (2015)
- [16] H. R. Kricheldorf, K. Bornhorst, H. Hachmann-Thiessen, *Macromol.*, 38, 5017-5024 (2005)
- [17] P. J. A. In't Veld, E. M. Velner, P. V. de Witte, J. Hamhuis, P. J. Dijkstra, J. Feijen, *J. Polym. Sci., A, Polym. Chem.*, 35, 219-226 (1997)
- [18] Y. Yamada, K. Tanaka, *Bull. Jpn. Soc. Coord. Chem.*, 62, 12-22 (2013)
- [19] C. Tsutsumi, R. Watanabe, A. Tokumaru, N. Kuwaoka, Y. Nakayama, T. Shiono, *J. Appl. Polym. Sci.*, 133, 9544-9552 (2016)
- [20] T. Miyata, T. Masuko, *Polym.*, 39, 5515-5521 (1998)
- [21] Y. Yamada, K. Tanaka, *Bull. Jpn. Soc. Coord. Chem.*, 62, 12-22 (2013)
- [22] J. Zhang, Y. Duan, A. J. Domb, Y. Ozaki, *Macromolecules*, 43, 4240-4246 (2010)
- [23] E. Meaurio, N. Lopez-Rodriguez, J. R. Sarasua, *Macromolecules*, 39, 9291-9301 (2006)