環状オリゴ糖から成る自己組織性ナノシートの 薬物担持・徐放特性と接着挙動

東京大学大学院新領域創成科学研究科物質系専攻

上 沼 駿太郎

We recently reported the formation of a pseudo-polyrotaxane nanosheet (PPRNS), which possesses a self-assembled nanosheet structure bearing a pseudo-polyrotaxane (PPR) consisting of β -cyclodextrins (β -CDs) and a carboxyl-terminated poly(ethylene oxide)₇₅-b-poly(propylene oxide)₂₉-b-poly(ethylene oxide)₇₅ triblock copolymer (EO₇₅PO₂₉EO₇₅-COOH). In this study, we investigate the ability of PPRNS to load fluorescent probes, the dissolution mechanism of PPRNS into solvent by heating, and the adhesion behavior of PPRNS to uneven material surfaces. The fluorescent probes without methyl groups were not absorbed by PPRNS. These results indicate that PPRNS has a molecular recognition property based on the hostguest interaction of the functional groups on probe molecules and molecular-sized spaces of PPRNS surfaces, which may be vacant β-CDs and voids between β-CD columns. The dissolution mechanism of PPRNS was investigated from the viewpoint of crystallinity, particle morphology, and PPRNS concentration through proton nuclear magnetic resonance spectroscopy, scanning electron microscopy, and X-ray scattering analysis. The results revealed that the PPRNS dissolved in two steps during heating. First, β-CDs of the PPRNS de-threaded from the axis and the PPRNS dissolved in the out-of-plane direction thinned while maintaining the rhombic structure. Upon further heating, both β -CD and the PPR dissolved, collapsing the rhombic structure of the PPRNS in the in-plane direction—this occurred upon the melting of the β -CD crystals of the PPRNS-thereby achieving an amorphous state. Finally, we could achieve observing the adhesion behavior of PPRNS to the Blu-ray disk substrate (1D bending), polystyrene spherical beads (2D bending), and random rough surface of pork skin. In the future, we will further elucidate the basic mechanism, investigate molecular loading and sustained-release capabilities, and discover the potential of this material as DDS material.

1. 緒 言

膜厚が100nm以下で大面積を有する粒子はナノシート と呼ばれる。材料は薄いほど柔軟であり、ナノシートは特 に大きな柔軟性を有するため、標的物の凹凸に対してフレ キシブルに追従できる。これにより密接に大面積で材料表 面と近距離相互作用することで強力な接着特性を示す。近 年、ナノシートに薬剤を担持させることで、高接着性の農 薬・生体・化粧品材料への応用を目指した研究が注目され ている。しかし従来のナノシート材料は無機物質から成り、 生体安全性が懸念されている。

我々はごく最近、高生体安全性と分解性を同時に有す る全く新しいナノシート材料である擬ポリロタキサンナ ノシート (PPRNS) の作成に成功した¹⁻³⁾。環状オリゴ糖で あるβ-シクロデキストリン (CD) と生体適合性の高い poly (ethylene oxide)₇₅-*b*-poly (propylene oxide)₂₉-*b*-poly (ethylene oxide)₇₅ (EO₇₅PO₂₉EO₇₅; 下付き文字はユニッ ト数)トリブロックコポリマーを室温の水中で混合する だけで PPRNS は自発的に形成される (Fig. 1a)。β-CD は ブロックコポリマー中央のPO 部位のみを選択的に包接



Self-Assembled Nanosheet Composed of Cyclic Oligosaccharides: Drug loading and release properties and adhesion behavior

Shuntaro Uenuma

Graduate School of Frontier Sciences, The University of Tokyo



Fig. 1 PPRNS の形成モデルと構造

し、その後β-CDの直径方向にのみ結晶が成長すること でPPRNSが形成される。走査型電子顕微鏡観察 (SEM) や 原子間力顕微鏡 (AFM) 測定により詳細な構造が明らかと なっている (Fig. 1b, c)¹⁾。本研究では、生体材料やドラ ッグデリバリーシステム (DDS) としての応用を見据えて、 PPRNSの低分子担持能力、PPRNSの溶解挙動、および PPRNSの材料表面への接着挙動について明らかにした。

2. 方法

2.1. PPRNSの作成

重水を溶媒に用いたPPRNSの作成手順を次の通りであ る。16mg/mLのβ-CDを重水中に加え、加熱することで ほぼ完全に溶解させた。このβ-CD重水溶液を室温に戻し たあと、4mg/mLの両末端カルボン酸化EO₇₅PO₂₉EO₇₅ (EO₇₅PO₂₉EO₇₅-COOH)を溶解させ、数日間静置することでPPRNS重水分散液を作製した。またPPRNS濃度を 濃縮した試料を次のように作成した。遠心分離によって PPRNSを沈殿させ、75vol%の上澄みを除去することで PPRNS濃度を4倍に濃縮した。低分子担持と溶解機構解 明の実験ではこのPPRNSを用いた。また両末端アミノ 化EO₇₅PO₂₉EO₇₅(EO₇₅PO₂₉EO₇₅-NH2)を用いてPPRNS 試料を同様に準備し、材料表面への付着実験ではこの PPRNSを用いた。

2.2. PPRNSへの低分子担持実験と定量

PPRNSへ担持させるモデル分子として、蛍光分子であ るローダミン(R) 6G、R123、R590、Uranine、RB、R640 をPPRNSの分散液に加えて蛍光顕微鏡観察を行い、これ らの色素のH₂O-PPRNSへの担持の可否を調べた。また R6GとR590は重水中のPPRNSに担持されたので、遠心 分離により沈降として回収し、上澄みを紫外可視吸収スペ クトル (UV-vis) 測定することでR6GとR590がPPRNSへ 担持された量を調べた。

2.3. 加熱によるPPRNSの溶解の機構

PPRNSの重水分散液は加熱することで溶解する。各温 度においてPPRNSの重水分散液に対してプロトン核磁気 共鳴(¹H NMR)測定を行うことで、加熱によるPPRNSか らのβ-CDとEO₇₅PO₂₉EO₇₅-COOHの溶解量の定量を行 った。マレイン酸を標準物質として使用し、PPRNS分散 液とマレイン酸重水溶液が混合しないように特殊NMR管 (二重NMR管)を用いて測定を行った。内管に少量のマレ イン酸標準物質の重水溶液を、外管に 600 μLのPPRNS 重 水分散液を封入することで両者が混合しないので、分子が 互いに干渉することなく¹H NMRを測定することができ る。EO₇₅PO₂₉EO₇₅-COOHおよびβ-CDの濃度の算出にあ たっては、EO₇₅PO₂₉EO₇₅-COOHおよびβ-CDの濃度の算出にあ たっては、EO₇₅PO₂₉EO₇₅-COOHのPO部位のメチル基に 由来する 1 ppm付近のピークと、β-CDの2つのO原子が 結合しているC1Hに由来する 5-6 ppmのピークの積分値 を用いた。

2.4. PPRNSの材料表面への付着

PPRNSをブルーレイディスク (BD) や半径約1.43 μmの ポリスチレン球、豚皮などの凹凸・曲面を有する材料表面 上にPPRNSを付着させ、SEM 観察またはAFM 測定を行 うことでPPRNSの付着挙動を調べた。PPRNSを各材料表 面に付着させる方法は次の通りである。BD: BD表面の フィルムを粘着性テープで剥がし、ディスク記録層を露出 させPPRNSの付着対象とした。BDをPPRNS水分散液に 2秒間浸した後、表面を水で2秒間ほど洗浄し、乾燥させ た。ポリスチレン球:ポリスチレン球の水分散液(30 μL) をSi基板上にドロップキャストし、次にPPRNS水分散 液 30µLを滴下してポリスチレン球上にPPRNSを載せた。 豚皮:PPRNS水分散液 30µLを豚皮上に滴下し乾燥させた。

3. 結果

3.1. PPRNSへの低分子担持⁴⁾

種々の蛍光分子をPPRNS重水分散液に添加した後の蛍 光顕微鏡観察像をFig.2に示す。輝度が高い粒子は蛍光分 子を担持したPPRNSであり、輝度の低い粒子は蛍光分子 を排斥していることを示す。これらの結果から、化学構造 のわずかな違いによってPPRNSへの担持の可否が異なる ことがわかった。

PPRNSに担持されたRGとR590に対し、担持量の定量 解析を行った。その結果、RGとR590の担持量はPPRNS を構成するCDのmol量に対してそれぞれ2.7mol%および 4.3mol%であった。

PPRNSへの蛍光分子の担持において、Fig. 2中の化学 構造に赤線で示した官能基が重要な役割を果たしていると 考えられる。これらの官能基は立体的に小さく疎水的であ る。PPRNSの表面にはCDの結晶構造に由来する分子サ イズの空孔が存在するため、それらの空孔と官能基が相互 作用したと考えられる(Fig. 3)。蛍光分子はサイズの観点 からPPRNSの内部に侵入することは難しいため、低分子 はPPRNSの表面のみに付着したと考えられる。それにも 関わらず有意な量の分子担持を実現できたことは、表面積 が極めて大きいナノシート形状の恩恵と言える⁴⁾。

3.2. PPRNSの溶解機構⁵⁾

PPRNSはDDS材料などへの利用が展望されている。薬物の徐放性を制御するために、PPRNSの溶解機構の理解 は重要である。本研究では、PPRNSが加熱により溶解す る際の機構を¹H NMRによる組成解析や種々の構造解析 手法を用いて調べた。

重水 (D_2O) を用いて作成した PPRNS 分散液におい て、PPRNS は加熱により溶解する。PPRNS から溶解し たβ-CD と EO₇₅ PO₂₉ EO₇₅-COOH の量を定量するために ¹H NMR 測定を用いた。¹H NMR 測定によって溶解した成 分は検出されるが、固体である PPRNS は検出されない⁴)。 PPRNS が溶解した場合、¹H NMR スペクトルのβ-CD と EO₇₅ PO₂₉ EO₇₅-COOHのPO 部位に由来するピークの積分 値の増加は、PPRNS からの溶解量を示す。

Fig. 4a, bはそれぞれβ-CDとEO₇₅PO₂₉EO₇₅-COOH を混合した直後の溶液と混合後1週間経過した重水溶液 の¹H NMRスペクトルである。β-CDとEO₇₅PO₂₉EO₇₅-COOHに由来するピークの積分値が時間とともに減少し たことから、PPRNSが形成したことがわかる。次に23°Cで 1週間形成させたPPRNSを90℃に加熱し¹H NMR測定を



Fig. 2 化学構造が異なる蛍光分子を PPRNS 分散水に添加した後の蛍光顕微鏡観察像



Fig. 3 Schematic illustration of the interaction between the methyl groups a and c of R6G and the PPRNS surfaces. Only the movement of groups *a* and *c* are constrained.



Fig. 4 ¹H NMR spectra of PPRNS (a) immediately after mixing β -CD and EO₇₅PO₂₉EO₇₅-COOH in D₂O, (b) 1 week after its formation, and (c) heated to 90°C



Fig. 5 Plots of X_{CD} (*T*) and X_{axis} (*T*) of PPRNS D₂O dispersion as a function of temperature.

行った(Fig. 4c)。 β -CDのC1HプロトンとEO₇₅PO₂₉EO₇₅-COOHのCH₃プロトンのピークの積分値は加熱により増加した。ここで、23℃の形成開始時(t=0)における溶液の β -CDのC1HとEO₇₅PO₂₉EO₇₅-COOHのCH₃の積分値を それぞれ $I_{i_{cD}}$ 、 $I_{i_{axis}}$ とし、形成開始から1週間後の溶液に おいてそれぞれ I_{CD} (23℃)、 I_{axis} (23℃)とする。同様に温 度*T*におけるそれぞれの積分値を I_{CD} (*T*)および I_{axis} (*T*)と する。各温度におけるPPRNS中の β -CDと軸の溶解度(X_{CD} (*T*)、 X_{axis} (*T*))は以下のように示される。

$$X_{CD}(T) = \frac{I_{CD}(T) - I_{CD}(23 \,^{\circ}C)}{I_{i_{c}CD} - I_{CD}(23 \,^{\circ}C)} \times 100 \, [\%] \dots \dots (1)$$

$$X_{axis}(T) = \frac{I_{axis}(T) - I_{axis}(23\ C)}{I_{i_axis} - I_{axis}(23\ ^{\circ}C)} \times 100[\%] \dots (2)$$

ここで、 $I_{i_{c}CD}-I_{c}D}(23^{\circ}C)$ 、 $I_{i_{axis}}-I_{axis}(23^{\circ}C)$ は、23°Cに おいてPPRNSを構成する β -CDとEO₇₅PO₂₉EO₇₅-COOH の量に対応する。また $I_{CD}(T)-I_{CD}(23^{\circ}C)$ 、 $I_{axis}(T)-I_{axis}(23^{\circ}C)$ は、各温度への加熱によりPPRNSから溶解した β -CDお よびEO₇₅PO₂₉EO₇₅-COOHの量に対応する。Fig. 5 は X_{CD} (T)と $X_{axis}(T)$ の温度に対するプロットである。このプロ ットから、PPRNSの β -CDとEO₇₅PO₂₉EO₇₅-COOHは加 熱により溶解し、80°C以上で $X_{CD}(T)$ と $X_{axis}(T)$ はほぼ 100%に達することがわかる。さらにPPRNSを構成する β -CDとEO₇₅PO₂₉EO₇₅-COOHの量を求めることができ、 18.8 mg mL⁻¹(16.5 mmol L⁻¹)の β -CDと7.0 mg mL⁻¹(0.83 mmol L⁻¹)のEO₇₅PO₂₉EO₇₅-COOHであることがわかった。

PPRNSの $X_{CD}(T) \ge X_{axis}(T)$ の温度に対するプロット (Fig. 5)から、23-35℃の範囲ではβ-CD と EO₇₅PO₂₉EO₇₅-COOH は溶解しないことがわかる。一方で中温域(35-55 ℃)では、 $X_{CD}(T)$ は17%、 $X_{axis}(T)$ は1.2%(53℃)となっ た。β-CDがEO₇₅PO₂₉EO₇₅-COOHに比べて優先的に溶解 しており、PPRNS中のβ-CDが軸から脱包接したことを 示唆する。さらに加熱して55℃以上になると溶解が急激 に加速し、82℃で $X_{CD}(T) \ge X_{axis}(T)$ はほぼ100%に達し た。この結果から、PPRNSの溶解過程は3段階(23-35℃、 35-55℃、55℃以上)に分けられることがわかった。

PPRNSの構造変化を解析するために、PPRNSの重水 分散液を30、50、60、70、95℃に加熱して5分間保持 し、PPRNSをSi基板上に載せSEM観察を行った(Fig. 6)。 PPRNSは30、50、60℃では単斜晶構造を反映した菱形 が観察された。一方で70℃では菱形構造が乱れ、95℃で は構造体がほとんど観察されなかった。PPRNSの構造変 化を定量的に解析するために、各温度のPPRNSについて 300-400個の粒子をカウントして平均面積を求め温度に 対してプロットした(Fig. 6)。平均面積は50℃まではほと んど変化せず、60℃で平均面積は減少した。これは面内 方向の分解が進行したことを示しており、70℃に加熱し



Fig. 6 SEM images of PPRNS prepared at 30, 50, 60, 70, and 95°C and the average area of PPRNS as a function of temperature.



Fig. 7 (a) WAXS patterns of PPRNS D_2O dispersion at different temperatures. (b) The relative peak area of the 020 plane (R_{020} , the initial value is 1) as a function of temperature.

たPPRNSの平均面積はさらに減少した。95℃では、ほと んどすべての粒子が溶液中に溶解した。これらの結果は PPRNSの溶解が温度の上昇に伴って促進したことを示し ており、¹H NMRの結果と整合している。

加熱によるPPRNSの結晶化度の変化をWAXSにより測 定した(Fig. 7a)。30°Cにおいて2θ=7.3°、9.8°、12.0°、 14.6°、15.3°、17.7°、19.7°に回折ピークが観察された。 これらのピークはそれぞれβ-CDの単結晶構造の(020)、 (200)、(112)、(040)、(310)、(240)、(241)面に対応する。 そして加熱によりこれらのピーク面積は減少した。これら のピーク面積の減少はβ-CD結晶が非晶化または溶解した ことを示す。PPRNSについて、020面の相対ピーク面積 (*R*₀₂₀、30°Cにおける 020面のピーク面積を初期値1とする) を温度に対してプロットした (Fig. 7b)。 R_{020} は55℃まで 徐々に減少し、55℃以上では急速に減少した。65℃にな ると R_{020} はほとんど消失した。約55℃を境に R_{020} の温度 依存性が異なることから、PPRNSの β -CD結晶の溶解に は2種類の機構が存在することが示唆された。

小角X線散乱(SAXS)測定を用いて重水中のPPRNS の構造と加熱による構造変化を調べた(Fig. 8)。30℃の PPRNS重水分散液のSAXSプロファイルにおいて、ナノ シートの形状因子が観測された。PPRNSにおいてβ-CD 結晶層の電子密度が高いため、SAXSプロファイルには β-CD結晶層に由来する散乱が主に観測される。このこと からβ-CD結晶層がナノシート形状をとっていることがわ かった。さらにフィッティングにより、このナノシートの 厚さは約10.5nmと評価された。

PPRNS 重水分散液を 55 °C に加熱したところ、形状因 子のフリンジ (落ち込み)の位置は high q 側へシフトした。 フィッティングにより、PPRNSのβ-CD 結晶層の厚さが 10.5 nm から 9.0 nm に減少したことがわかった。PPRNS 中のβ-CD が軸から脱包接することでβ-CD 結晶層が薄く なったと考えられる。この結果は、¹H NMR 測定で得ら れた、中温域 (35-55 °C) ではβ-CD のみが PPRNS から溶



Fig. 8. SAXS patterns of PPRNS D₂O dispersion at different temperatures.

解するという結果と一貫する。PPRNS重水分散液を65℃ に加熱すると、構造因子に由来するピークが観測された。 二次ピークのq値は一次ピークのq値の2倍であることか ら、ラメラ構造が形成されたことがわかった。さらに一次 ピークの位置 (q = 0.0099 Å⁻¹) から周期長が 63 nm である ことがわかった。この値はEO₇₅PO₂₉EO₇₅-COOHの伸び きり鎖長である 63 nm と等しいことから、EO₇₅PO29EO75-COOHが伸びきった状態で積層していることが示唆され る。ここで、65℃ではPPRNSのβ-CD層は非晶質である ことがWAXS測定からわかっている。β-CD層が非晶化す ることにより、β-CDがPO鎖だけでなくEO鎖の一部も覆 い、軸全体に分散したβ-CDが軸を引き伸ばしたと考えら れる。95℃のPPRNS重水分散液のSAXSプロファイルで は、ナノシートの形状因子は消失し、low q領域($q = 0.02 \text{ Å}^{-1}$ 以下)の散乱強度が大きく減少した。同時に、q≈0.02Å⁻¹ にブロードなピークが観測され、数十ナノメートルオーダ ーのミセルが形成されたことが示唆された。実際、同じ 濃度のEO₇₅PO₂₉EO₇₅-COOH溶液について 95℃でSAXS 測定を行ったところ同様の散乱パターンが観測された。 EO₇₅PO₂₉EO₇₅は水中で、PO鎖の疎水凝集によるミセル を形成することがよく知られている⁶⁾。

加熱による PPRNSの構造変化のまとめを Fig. 9 に示 す。23℃から 30℃では、PPRNSの構造変化はほとんど 見られない。中温域(35-55℃)では、PPRNS中のβ-CDが EO₇₅PO₂₉EO₇₅-COOHから脱包接して溶解し、PPRNSの



Fig. 9 Schematic illustrations of the structural changes PPRNS in D₂O upon heating.

結晶性と菱形構造は維持されているものの薄層化が進行 する。55℃以上ではPPRNSの結晶性が低下し、菱形構造 が大きく崩れ、EO₇₅PO₂₉EO₇₅-COOHとβ-CDが溶媒中に 大きく溶解する。この二段階の分解は、PPRNSにおける β-CDのトポロジカルな拘束の異方性に基づく。PPRNSの 面外方向の分解は、β-CDが軸から1つずつ外れることに より生じるため、より低い温度で起こる。一方で面内方向 の分解は、β-CDが軸上で積層したカラムナー構造体(約 10 個のβ-CDから成る)間の水素結合を同時に切断する必 要があり、β-CDが1つずつ脱包接するよりも高いエネル ギーが必要であるため、より高い温度で生じる。さらに加 熱して65℃になると、PPRNS中のβ-CD層は非晶化した。 このときβ-CDは主にPO鎖上に、一部はEO鎖上に存在し ており、EO₇₅PO₂₉EO₇₅-COOHは引き延ばされたコンフ ォメーションをとり、面間隔 63nm のラメラ構造を形成し た。

3.3. PPRNSの材料表面への付着⁽⁾

ナノシート材料は一般に曲げ剛性が小さく柔軟に折れ曲 がることができるため、付着性が高いことが知られている。 PPRNSも同様に、凹凸のある材料表面に対して柔軟に折 れ曲がり追従し、高い付着性を示すことが期待される。周 期的な凹凸(高さのギャップ=25nm、ピッチ=200nm)を 有するブルーレイディスク(BD)基板に付着した PPRNSに 対して AFM 測定を行った (Fig. 10a)。また AFM 像中の 線に沿った高さプロファイルをFig. 10bに示す。PPRNS は表面の凹凸に追従して一次元的に曲がっていることが確 認された。円の関数のフィッティングにより、曲げ半径は 200nmであることがわかった。さらに半径1.43µmのポ リスチレン球にPPRNSを付着させSEM観察を行ったとこ ろ(Fig. 10c)、PPRNSは二次元的に屈曲し球に対して密接 に付着することが明らかになった。最後にPPRNSを豚皮 に付着させSEM 観察を行ったところ (Fig. 10d)、PPRNS はランダムな凹凸を有する表面にも追従することがわか った。PPRNSの曲げの駆動力は、乾燥過程での液架橋力 とそれに続くファンデルワールス相互作用と考えられる。 PPRNSは溶液中でシート形状を維持できるほどの硬さを 有しているが、基板表面に付着したときには壊れずに折れ 曲がることができる適度な柔軟性を有している。



Fig. 10 (a) AFM image and (b) height profile of PPRNS on a BD substrate (1D bending); (c) SEM image of PPRNS on a polystyrene spherical bead (2D bending) with a radius of 1.43 μm; and (d) SEM image of PPRNS on a rough pork skin.

4. 考察

本研究では当研究室にてごく最近見出された新材料であ る擬ポリロタキサンナノシート (PPRNS)を用いて、生体 材料やドラッグデリバリーシステム (DDS) への応用を見 据えて、PPRNSの低分子化合物担持能、加熱によって液 中へ溶解する機構、凹凸のある材料表面への付着挙動を明 らかにした。今後はさらに詳細な基礎的機構を明らかにす るとともに、分子担持や徐放能を調べて、DDS材料とし ての可能性を見出していきたいと考えている。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、公益財団法人コーセーコス メトロジー研究財団よりご助成いただきましたことに心よ り感謝申し上げます。

(引用文献)

- Uenuma, S.; Maeda, R.; Yokoyama, H.; Ito, K. Autonomously Isolated Pseudo-Polyrotaxane Nanosheets Fabricated via Hierarchically Ordered Supramolecular *Self-Assembly. Chem. Commun.* 2019, 55 (29), 4158-4161.
- Uenuma, S.; Maeda, R.; Yokoyama, H.; Ito, K. Formation of Isolated Pseudo-Polyrotaxane Nanosheet Consisting of α-Cyclodextrin and Poly (Ethylene Glycol). *Macromolecules* 2019, 52(10), 3881-3887.

- Uenuma, S.; Maeda, R.; Yokoyama, H.; Ito, K. Formation of Well-Defined Supramolecular Microstructures Consisting of γ-Cyclodextrin and Polyether—Rods, Cubes, Plates, and Nanosheets— Guided by Guest Polymer Structure. *Polymer.* 2019, 179, 121689.
- Uenuma, S.; Maeda, R.; Yokoyama, H.; Ito, K. Molecular Recognition of Fluorescent Probe Molecules with a Pseudopolyrotaxane Nanosheet. ACS Macro Lett. 2021, 10 (2), 237-242.
- 5) Ando, N.; Uenuma, S.; Yokoyama, H.; Ito, K. Thermally Induced Disassembly Mechanism of Pseudo-Polyrotaxane Nanosheets Consisting of β-CD and a Poly (Ethylene Oxide) -b-Poly (Propylene Oxide) -b-Poly (Ethylene Oxide) Triblock Copolymer. *Polym. Chem.* 2022, *13* (4), 501-507.
- 6) Alexandridis, P.; Holzwarth, J. F.; Hatton, T. A. Micellization of Poly (Ethylene Oxide) -Poly (Propylene Oxide) -Poly (Ethylene Oxide) Triblock Copolymers in Aqueous Solutions: Thermodynamics of Copolymer Association. *Macromolecules* 1994, 27 (9), 2414-2425.
- Uenuma, S.; Endo, K.; Yamada, N. L.; Yokoyama, H.; Ito, K. Polymer Brush Formation Assisted by the Hierarchical Self-Assembly of Topological Supramolecules. ACS Appl. Mater. Interfaces 2021, 13 (50), 60446-60453.