

# MRI の分子イメージング技術を応用した外用消炎鎮痛剤のための 非破壊的物性評価手法

星薬科大学 調査研究者氏名：大貫義則 (薬剤学教室 助教)  
(〒142-8501 東京都品川区荏原 2-4-41 TEL03-5498-5783)

## 要旨

光架橋型ポリアクリル酸(PAA-HEMA)ヒドロゲルは、従来のゲルに比べて保形性や水分保持能に優れており、外用消炎鎮痛剤などの基剤として非常に有望な新規素材である。本研究では、この優れたゲル物性をより深く理解するために、ヒドロゲル中の水分子運動性に着目し、詳細な検討を行った。実験計画法に従って各種調製条件を変化させた PAA-HEMA ヒドロゲルを調製し、これら試料の  $T_1$ 緩和時間( $T_1$ )および拡散係数( $D$ )を磁気共鳴画像法(MRI)で測定した。そして、分散分析による解析を行うことで、調製条件によるヒドロゲル中の水分子運動性への影響を明らかにした。さらに本研究では、各種ゲル物性(ゲル分率、膨潤度、ゲル強度および水分保持能)についても詳細な検討を行い、得られた実験データについてベイジアンネットワーク(BN)による解析を行った。BN 解析によって、PAA-HEMA ヒドロゲルの調製条件—水分子運動性—ゲル物性間の因果関係が明確になった。また解析の結果から、本ヒドロゲルの場合、 $T_1$ および  $D$ は、それぞれポリマーの親水基による水分子運動性の構造化およびヒドロゲルの架橋構造を強く反映するパラメータであることが明らかになった。さらに  $T_1$ はヒドロゲルの膨潤挙動と水分保持能に、 $D$ は保形性に強く影響する因子であることが明らかになった。以上の結果より、ヒドロゲルの機能に、ゲル内の水分子運動性が密接に関与していることが明らかになった。本研究から得られた知見は、外用剤などに用いられるヒドロゲルを設計・開発するうえで、きわめて有用な知見になるものと期待される。

## 1、調査研究目的

高分子が水中で三次元ネットワークを構築することによって形成されるヒドロゲルは、その形状を維持しつつ、大量の水分を保持できることから、パップ剤などの外用消炎鎮痛剤の基剤に広く用いられている。外用剤基剤としてのヒドロゲルには、様々な特性が求められる<sup>1,2</sup> [ENREF 1](#)。まず、粘着層として製剤を患部にしっかりと固定でき、適用後は容易に剥がすことができるよう、適当な粘着力や保形性が求められる。また、強力な患部冷却作用を得るために、大量の水分をゲルの中で安定に保持させることも重要な要求特性である。さらに、製剤に配合された薬物の貯蔵層や放出制御層としての役割も求められる。

ポリアクリル酸(PAA)ヒドロゲルは外用剤基剤として最も汎用されるヒドロゲルである。その調製は、PAA またはその部分中和物の水溶液に多価の金属イオンを添加し、

ポリマーのカルボキシル基同士をイオン結合によって架橋させることで行われる。しかしながら、上記のような多岐にわたるパップ剤基剤の要求特性には、互いに背反するものも多く、従来の PAA ヒドロゲルでは、すべての要求を十分に満足させることは非常に困難である。

そうした課題を克服し、多様な要求特性が高度に制御されたヒドロゲルを得るために、我々は、ゲルの形成に光化学反応を応用した光架橋型 PAA ヒドロゲルを開発した<sup>3-5</sup>。Figure 1 にベースポリマーの組成およびゲルの形成様式を示す。本ヒドロゲルは、ベースポリマーとして 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA) を修飾させた PAA を用いている (Fig. 1a)。このポリマーの水溶液に開始剤を添加して紫外線 (UV) を照射すると、産生されたラジカルによって HEMA 基の二重結合が反応し、分子内および分子間で共有結合によりポリマー同士が架橋されたヒドロゲルが形成する (Fig. 1b)。本ヒドロゲルの大きな特徴として、イオン結合よりも結合力が強力な共有結合による架橋構造によってゲルが構築されていることが挙げられる。このことにより、架橋密度を低く抑えても十分なゲル強度を得ることができ、その分、大量の水分を保持させることできる。さらに、調製条件を変化させることでゲルの物性が著しく変化させられるため、多様な要求物性を高度に満たすことができる。したがって、外用消炎鎮痛剤などの基剤としてきわめて有望な新規素材であると考えられる。

しかし、PAA-HEMA ヒドロゲルの調製条件とゲル物性との関係は非常に複雑であり、いまだそれらの因果関係が十分に解明されたとは言えない。そこで、PAA-HEMA ヒドロゲルの特性についてのさらなる理解を目的とし、本研究ではヒドロゲル中の水分子運動性に着目した。主成分である水のゲル内での分子状態はその調製条件によって大きく変化することが予想され、そのような水分子状態の変化は、ヒドロゲルの物性に大きく影響することが考えられる。検討として、まず、調製条件を変化させたヒドロゲルを調製し、それらの  $T_1$  緩和時間 ( $T_1$ ) および拡散係数 ( $D$ ) を磁気共鳴画像法 (magnetic resonance imaging, MRI) によって測定した。 $T_1$  および  $D$  に対する各調製条件の寄与を明らかにし、さらにこれら MR パラメータが水分子のどのような状態を表すパラメータであるか考察した。また本研究では、外用剤基剤に重要な各種物性 (ゲル分率、膨潤度、ゲル強度、水分保持能) を測定した。そして、得られた実験データをベイジアンネットワーク (BN) で解析し、PAA-HEMA ヒドロゲルの調製条件—水分子運動性—ゲル物性の因果関係を明らかにした。

## 2. 調査研究方法

### 2-1 試薬

PAA および 2,2-dimethoxy-2-phenylacetophenone (DMPA) は、和光純薬工業より購入した。また、HEMA は、Sigma-Aldrich より購入した。そのほかの試料は、すべて試薬特級のものを使用した。

## 2-2 PAA-HEMA ヒドロゲルの調製

光反応性ポリマーである PAA-HEMA を定法によって調製した<sup>4</sup>。この PAA-HEMA を用いて、PAA-HEMA ヒドロゲルを調製した。実験に用いたモデル製剤の処方を Table1 に示す。PAA-HEMA ヒドロゲルは、PBS (phosphate-buffered saline, pH 7.4) に PAA-HEMA と反応開始剤である DMPA を加えて均一な溶液としたのち、UV を照射することで調製した。なお、今回の検討では、ポリマー濃度、HEMA 修飾率、UV 照射時間、開始剤添加濃度を設計変数とし、L16 直行表に従って条件を変化させた 16 種類のモデル製剤を用いて検討を行った。UV 照射は、UV 硬化装置 (Aicure ANUP5204; Matsushita Electric Works, Tokyo, Japan) を用いて行った (28 mW/cm<sup>2</sup> at 365 nm)。

## 2-3 MR パラメータの測定

ヒドロゲルの  $T_1$  緩和時間( $T_1$ )および拡散係数( $D$ )は、いずれも室温にて 9.4 T Varian NMR system (Varian Technologies Japan, Tokyo, Japan) を用いて測定した。 $T_1$  は、inversion-recovery (IR) シーケンス(180° – t – 90° acquisition) および spin-echo (SE) シーケンスを組み合わせて測定した。 $D$  は、stimulated echo acquisition mode (STEAM) シーケンスに motion-probing gradients を組み合わせて測定した。

さらに MR パラメータを定量的に画像化した  $T_1$  マップおよび拡散係数 (ADC) マップを撮影した。 $T_1$  マップは gradient echo (GE) シーケンスによって撮像した。撮像条件として echo time (TE) を 3.20ms、TIs を 50, 100, 300, 500, 1000, 4000 および 8000 ms、フリップアングルを 10°とした。見かけの拡散係数画像(ADC map)は、pulsed-field gradient spin-echo (PGSE) シーケンスを用いて、傾斜磁場強度である  $b$  値を変化させることで、撮像した。 $T_1$  マップおよび ADC マップともに、視野角 (field of view, FOV) は 30 mm×30 mm、マトリックスサイズは 128×128、およびスライス厚を 1 mm とした。

## 2-4 ゲル分率および膨潤度の測定

調製した約 PAA-HEMA ヒドロゲル(ヒドロゲル中の固形分重量,  $W_{\text{solid}}$ )を精製水中に浸し、24 時間放置して膨潤させたのち、上澄みを除去して、膨潤したヒドロゲルの重量( $W_{\text{water}}$ )を測定した。続いて、凍結乾燥を行い、水分を完全に除去してから再度重量( $W_{\text{gel}}$ )を測定した。下記の式を使って、ヒドロゲルの重量変化からゲル分率および膨潤度を算出した。

$$\text{ゲル分率 (\%)} = \frac{W_{\text{gel}}}{W_{\text{solid}}} \times 100 \quad (1)$$

$$\text{膨潤度} = \frac{W_{\text{water}}}{W_{\text{gel}}} \quad (2)$$

## 2-5 ゲル強度の測定

プローブ挿入測定法によりテンシオメータ (RHEO TEX, Sun Scientific, Tokyo, Japan) を用いてゲル強度を測定した。プローブの形状は、円柱プローブ (直径 10 mm) を選択した。サンプルチューブに充てんしたヒドロゲルをテンシオメータの台に設置し、プローブがサンプルの表面に触れるところまで台を上昇させた。プローブを速度 1 mm/sec で試料に挿入し、深さ 4 mm まで挿入した時のプローブにかかる圧力 (Pa) を測定した。

## 2-6 水分保持能の評価

試料をフィルターチューブ (Nanosep Centrifugal Devices 3K Omega; Pall, Port Washington, NY, USA) に充填し、22 °C、18,000 g、60 分間遠心分離した。遠心分離によって得られる浸出液の重量を測定し、遠心分離前のヒドロゲル重量を 100% としたときの重量比を算出した。浸出液量の少ないほど水分保持能の高いヒドロゲルとみなした。

## 2-7 ベイジアンネットワーク (BN) による解析

ソフトウェア BayoNet, Version 5.0 (Mathematical Systems, Tokyo, Japan) を使って、PAA-HEMA ヒドロゲルの調製条件—水分子運動性—ゲル物性の依存関係を表すベイジアンネットワーク (BN) を構築した。なお、BN 構築するためのアルゴリズムに maximum log likelihood (ML) を利用し、調製条件を親ノード、水分子運動性を表す MR パラメータを子ノード、ゲル物性の値を孫ノードとして解析を行った。

# 3. 調査研究成果

## 3-1 調製条件の違いによるヒドロゲル中の水分子運動性の変化

PAA-HEMA ヒドロゲル中の水の  $T_1$  および  $D$  を Table 2 に示す。どちらのパラメータも処方間での変動が大きく、調製条件を変化させることでヒドロゲル中の水の分子状態が大きく変化することが示唆された。また、 $T_1$  と  $D$  の相関係数はさほど高くなく ( $r=0.721$ )、両者が水分子の異なる分子状態を表すパラメータである可能性が示された。

各調製条件の MR パラメータへの効果を明らかにするために、分散分析による解析を行った (Table 3 および 4)。 $F$  値が高いほど、各因子の寄与が大きいことを表す。解析の結果、 $T_1$  および  $D$  のいずれに対しても、ポリマー濃度の寄与が非常に大きく、ポリマー濃度が増大するにつれて  $T_1$  および  $D$  の著しい減少が認められた。また他の影響因子として、 $T_1$  に対しては HEMA 修飾率が、 $D$  に対しては UV 照射時間が有意に影響することが明らかになり、さらに  $D$  については、HEMA 修飾率と UV 照射時間の相互作用による影響も明らかになった。

### 3-2 $T_1$ および $D$ に対するポリマーの濃度および分子量による影響

$T_1$  および  $D$  が、それぞれヒドロゲル中のどのような水分子の状態を表すパラメータであるかを明確にするため、ポリマーの分子量および濃度による MR パラメータへの影響を検討した。なお、本実験では、PAA-HEMA を調製するための出発化合物である PAA を精製水に溶解させたポリマー溶液を試料として用いた。分子量による影響を評価するために、分子量の異なる PAA(MWs: 5 万、25 万、100 万)の 10%溶液を調製した。また、ポリマー濃度による影響を評価するために、分子量 25 万の PAA を用いて濃度を変化させた水溶液を調製した(ポリマー濃度: 5, 10 および 15%)。これらの試料をサンプルチューブに入れ、axial slice の  $T_1$  マップおよび ADC マップを撮像し(Fig.2a)、さらにそれらの画像から  $T_1$  および ADC の値を読み取ってヒストグラムを作成した(Fig.2b)。  $T_1$  値は、PAA 濃度が増加するにつれて著しい低下が認められたものの(5%,  $2.64 \pm 0.13$  s; 10%,  $2.43 \pm 0.13$  s; 15%,  $2.08 \pm 0.11$  s)、分子量による影響が認められなかった(PAA-5K,  $2.42 \pm 0.15$  s; PAA-250K,  $2.46 \pm 0.15$  s; PAA-1000K,  $2.40 \pm 0.13$  s)。一方、ADC 値は、ポリマーの濃度および分子量の増大に伴って、著しく減少した(ポリマー濃度 5% ~ 15% の変化,  $18.1 \pm 0.6 \times 10^{-10}$  m<sup>2</sup>/s ~  $15.3 \pm 0.5 \times 10^{-10}$  m<sup>2</sup>/s; 分子量 5K ~ 1000K,  $18.1 \pm 0.4 \times 10^{-10}$  m<sup>2</sup>/s ~  $16.6 \pm 0.4 \times 10^{-10}$  m<sup>2</sup>/s)。

### 3-3 BN による調製条件—水分子運動性—ゲル物性の依存関係の可視化

外用剤基剤として重要なゲル物性(ゲル分率、膨潤度、ゲル強度および水分保持能)を測定し、BN によって MR パラメータとの因果関係を明らかにしようと試みた。なお、本検討では、ヒドロゲルの水分保持能を評価する指標として、遠心分離に伴うヒドロゲルからの浸出液量を測定した(Fig.3a)。Figure3 に Rp.13 のヒドロゲルを用いて実験を行った時の MR 画像と、それらから作成した MR パラメータのヒストグラムを示す。浸出液の  $T_1$  および ADC は、いずれもヒドロゲルの値に比べて高い値を示した( $T_1$  および ADC の値; 浸出液,  $2.69 \pm 0.26$  s および  $19.4 \pm 0.9 \times 10^{-10}$  m<sup>2</sup>/s; 遠心前のゲル層,  $1.90 \pm 0.20$  s および  $14.3 \pm 0.3 \times 10^{-10}$  m<sup>2</sup>/s; 遠心後のゲル層,  $2.00 \pm 0.23$  s および  $15.8 \pm 0.26 \times 10^{-10}$  m<sup>2</sup>/s) (Fig 3c.)。さらに、本ヒドロゲルの溶媒である PBS についても同様の検討を行った(PBS の  $T_1$  および ADC の値,  $2.73 \pm 0.13$  s および  $21.3 \pm 0.4 \times 10^{-10}$  m<sup>2</sup>/s)。測定結果を比較してみると、浸出液の  $T_1$  および ADC は、PBS ときわめてよく一致していた。これらの結果から、遠心分離によって、得られる浸出液は、ヒドロゲルが安定に保持することが難しいバルク水であると考えられる。そこで、以降の検討では、浸出液量の少ないヒドロゲルほど高い水分保持能を有しているとみなして検討を行うこととした。

得られた実験データについて BN による解析を行い、ヒドロゲルの調製条件—水分子運動性—ゲル物性の依存関係の明確化を試みた。構築された BN を Fig.4 に示す。ノード間の矢印は、両者に依存関係が存在することを表している。この結果、すべての調製

条件は、 $T_1$  および  $D$  に関与していることが明らかになった。また、MR パラメータとゲル物性との関係には選択性があり、 $T_1$  はヒドロゲルの膨潤度および水分保持能に影響し、 $D$  は、ゲル分率とゲル強度に影響することが明らかになった。さらに、この BN から求められる条件付き確率表(CPT)を用いて、確率推論を行った。Figure4 には、ヒドロゲル中の水の  $T_1$  および  $D$  が低値を示す時(すなわち、ヒドロゲル中の水分子運動性が構造化されている時)の CPT を示す。ポリマー濃度および UV 照射時間が高い水準となる確率はそれぞれ 89% および 59% となり、したがって、ポリマー濃度が高く UV 照射時間が長くなるほど、ヒドロゲル中の水分子は構造化されることが明らかになった。また、ゲル物性については、 $T_1$  および  $D$  が短くなると、膨潤度が低下し、水分保持能が高くなる傾向が認められた。

#### 4. 考察

本研究では水分子状態を評価する MR パラメータとして  $T_1$  および  $D$  を選択してヒドロゲルの検討を行った。水分子の  $T_1$  に関する概念はすでに確立されている<sup>6</sup>。緩和(relaxation)とは、ラジオ波(RF)パルスの印加によってプロトンが励起したのち、平衡状態に戻っていく状態を意味する。 $T_1$  は、横緩和時間といわれる。これは、RF パルスの印加によって低エネルギー状態とは縦方向で逆向きにフリップしたプロトンが、平衡状態(低エネルギー状態)に回復する時間を指すためである。また、 $T_1$  はスピン格子(spin-lattice)緩和時間とも呼ばれる。これは、励起したプロトンが定常状態に回復するために、RF パルスの印加によって獲得したエネルギーを周囲の格子に与える時間を指すためである。なお、 $T_1$  値は、共鳴周波数(ラーモア周波数)と測定するプロトンの歳差運動の周波数の差で決定する。両者が近いときは、磁化ベクトルの回復は早いため、 $T_1$  は短い。一方、両者の差が大きいときは、 $T_1$  は長くなる。一般に水の  $T_1$  は長いことが知られている。これは、低分子である水の歳差運動の周波数が、ラーモア周波数よりも高いためである。また、水分子が親水基などと相互作用すると、その分子運動性は制限され、ラーモア周波数に近づいてくる。結合水の  $T_1$  が自由水に比べて短い値を取るのはこのためである。本研究では、PAA 溶液を用いてポリマーの濃度および分子量による  $T_1$  への影響を検討した(Fig.2)。その結果、試料溶液の  $T_1$  は、ポリマー濃度の増大によって著しく短縮したものの、平均分子量を変化させてもほぼ一定の値を示した。先に述べた通り、 $T_1$  は水分子と親水基との相互作用の度合いを示すパラメータである。PAA 溶液の場合は、親水基であるカルボキシル基の数は、ポリマー濃度によって変化するが、分子量による影響はない。このような理由から、ポリマー濃度のみが  $T_1$  に影響したものと考えられる。

一方、 $D$  は、親水基と水の相互作用による影響に、water compartmentalization と呼ばれる物理的な作用にも大きく依存する<sup>7</sup>。実験の結果、試料中の水の拡散性は、ポリマー濃度と分子量のいずれが増大した場合も著しく低下した。分子量の増大に伴う拡散性

の低下は、ポリマーの相互浸透(IPN)による物理的作用の増強が原因として考えられる。一方、ポリマー濃度の増大に伴う拡散性の低下の原因としては、IPNによる影響のほかに、親水基と水分子との相互作用(ポリマーによる水和作用)が影響することが考えられる。ただし、Fig.2の結果だけでは、それぞれの作用の寄与を区別して議論することは難しい。

分散分析による解析から、ヒドロゲルの調製条件による  $T_1$  および  $D$  への作用が明らかになった(Table 3 and 4)。ポリマー濃度のよる作用は  $T_1$  および  $D$  ともに最も強く、ポリマー濃度の変化がヒドロゲル中の水分子の状態を大きく変化させる要因であることが明らかになった。上記の検討を考え合わせると、ポリマー濃度の増大に伴う  $T_1$  の短縮は、試料中の親水基の数がポリマー濃度と共に増大したことに起因すると考えられる。また、ポリマー濃度のみならず、HEMA 修飾率による  $T_1$  への有意な影響も認められた。この理由は明確ではないものの、例えば、ポリマー中の HEMA 基が  $T_1$  緩和の際のプロトンからのエネルギーの授受に影響しているなどの可能性が考えられる。 $D$  に対するヒドロゲルの調製条件の作用では、ポリマー濃度による大きな寄与のほかに、UV 照射時間単独および HEMA 修飾率との交互作用による有意な影響が認められた。なお、いずれの要因においても、 $D$  が低下する条件は、光化学反応による架橋構造の構築が促進される条件と一致していた<sup>4,5</sup>。このことから、水の拡散性にはヒドロゲルの架橋構造が密接に関与していると考えられる。

続いて、ヒドロゲルの水分子状態が調製条件やゲルの特性値にどのように関与するか詳細に検討することとした。それらの関係は非常に複雑であることが予想されるため、データ解析に BN を利用することとした。BN は各因子の定性的な依存関係をグラフィカルモデルで示す確率モデルであり、CPT を用いて、ある事象が観測された時にほかの事象が生じる確率推論をおこなうことが可能である<sup>8</sup>。我々はこれまでに、製剤の処方検討に BN を応用し、製剤設計における本手法の有用性を明らかにしている<sup>9-11</sup>。

構築された BN より、ヒドロゲルの調製条件—水分子状態—ゲル物性との因果関係が明確になった。まず、すべての調製条件は、 $T_1$  および  $D$  との間で依存関係が認められ、いずれも調製されたヒドロゲルの水分子の状態に関与していることが示された。また、分散分析の解析結果と同様に、CPT による確率推論からも、ポリマー濃度の増大および UV 照射時間の延長によってヒドロゲル中の水の  $T_1$  および  $D$  が低下する傾向が明確に示された。一方、MR パラメータによるゲル物性への作用は選択的であり、 $T_1$  および  $D$  ではそれぞれ異なるゲル物性との依存関係が認められた。なお、上記の考察の中で、ヒドロゲル中での親水基と水との相互作用が  $T_1$  のみならず、 $D$  にも影響しうることを述べた。しかし、構築された BN では、 $T_1$  と  $D$  の作用は明確に区別されている。したがって、本研究においては、 $T_1$  は親水基と水との相互作用を、 $D$  はヒドロゲルの架橋構造などによる物理的な作用を反映するパラメータであるものと考えられる。BN の結果から、膨潤挙動と水分保持能は  $T_1$  と、ゲル強度は  $D$  との依存関係が認められている。

したがって、PAA-HEMA ヒドロゲルの膨潤挙動や水分保持能は主にヒドロゲル中での親水基と水との相互作用によって、ゲル強度は架橋構造によって制御されていることが明らかになった。

## 5. まとめ

本研究では、外用剤基剤の新規素材として期待される PAA-HEMA ヒドロゲルをモデル製剤として、ヒドロゲル中の水分子運動性を  $T_1$  および  $D$  といった MR パラメータにより詳細に検討した。実験の結果、 $T_1$  はポリマーと水分子との相互作用を、 $D$  はヒドロゲルの架橋構造の違いを表すパラメータであることが明らかになった。さらに、BN による解析結果などから、 $T_1$  はヒドロゲルの水分保持能および膨潤挙動に、 $D$  はゲル強度に強く影響する因子であることが明らかになった。以上の研究は、外用剤基剤用のヒドロゲルの特性を深く理解するうえで、きわめて有用な情報になるものと考えられる。

## 6. 調査研究発表

- 大貫義則, 長谷川直樹, 黄田千尋, 小幡誉子, 高山幸三, 外用剤基剤用ヒドロゲル中の水分子運動性評価及びゲル物性への寄与, 日本薬学会第 57 回関東支部大会, 2013.10.26. 東京
- 大貫義則, MRI を用いた製剤のイメージング, 第 19 回創剤フォーラム若手研究会, 2013.12.7. 千葉
- 大貫義則, 長谷川直毅, 黄田千尋, 小幡誉子, 高山幸三, MRI を利用したヒドロゲル中の水分子運動性評価およびゲル物性への寄与, 日本薬学会 第 134 年会, 2014.3.27-30. 熊本
- Y. Onuki, N. Hasegawa, C. Kida, Y. Obata, K. Takayama, Involvement of water molecular mobility in the properties of photocrosslinked polyacrylic acid hydrogel for use in dermatological patch adhesive, 5th FIP Pharmaceutical Sciences World Congress (PSWC2014), Melbourne, Australia, April 13-16. (2014). (予定, 要旨提出済)
- 大貫義則, 長谷川直毅, 黄田千尋, 小幡誉子, 高山幸三, 外用剤基剤用ヒドロゲルにおける水分子運動性と物性との因果関係, 日本薬剤学会 第 29 年会, 2014.5.20-22. 大宮 (予定, 要旨提出済)

## 7. 引用文献

1. Venkatraman S, Gale R 1998. Skin adhesives and skin adhesion. 1. Transdermal drug delivery systems. *Biomaterials* 19(13):1119-1136.
2. Cilurzo F, Gennari CGM, Minghetti P 2012. Adhesive properties: A critical issue in transdermal patch development. *Expert Opinion on Drug Delivery* 9(1):33-45.



3. Onuki Y, Nishikawa M, Morishita M, Takayama K 2008. Development of photocrosslinked polyacrylic acid hydrogel as an adhesive for dermatological patches: involvement of formulation factors in physical properties and pharmacological effects. *Int J Pharm* 349(1-2):47-52.
4. Onuki Y, Hoshi M, Okabe H, Fujikawa M, Morishita M, Takayama K 2005. Formulation optimization of photocrosslinked polyacrylic acid modified with 2-hydroxyethyl methacrylate hydrogel as an adhesive for a dermatological patch. *J Control Release* 108(2-3):331-340.
5. Nishikawa M, Onuki Y, Isowa K, Takayama K 2008. Formulation optimization of an indomethacin-containing photocrosslinked polyacrylic acid hydrogel as an anti-inflammatory patch. *AAPS PharmSciTech* 9(3):1038-1045.
6. Hashemi RH, Bradley Jr WG, Lisanti CJ. 2010. *MRI: The Basics*. ed., Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
7. Wang JH 1954. Theory of the self-diffusion of water in protein solutions. A new method for studying the hydration and shape of protein molecules. *J Am Chem Soc* 76(19):4755-4763.
8. Cooper GF, Herskovits E 1992. A Bayesian method for the induction of probabilistic networks from data. *Mach Learn* 9(4):309-347.
9. Hayashi Y, Oshima E, Maeda J, Onuki Y, Obata Y, Takayama K 2012. Latent structure analysis of the process variables and pharmaceutical responses of an orally disintegrating tablet. *Chem Pharm Bull* 60(11):1419-1425.
10. Hayashi Y, Kikuchi S, Takayama K 2011. Modeling of latent structure of indomethacin solid dispersion tablet using Bayesian networks. *Drug development and industrial pharmacy* 37(11):1290-1297.
11. Kikuchi S, Onuki Y, Yasuda A, Hayashi Y, Takayama K 2011. Latent structure analysis in pharmaceutical formulations using Kohonen's self-organizing map and a Bayesian network. *Journal of pharmaceutical sciences* 100(3):964-975.

**Table 1** Model formulations of a PAA–HEMA hydrogel based on L16 experiment design

Formulation number	A; Polymer concentration (wt%)	B; Modification with HEMA (mol%)	C; UV exposure time (min)	D; Initiator concentration (wt% of polymer amount)
Rp. 1	10	5	1	0.1
Rp. 2	10	5	1	1.0
Rp. 3	10	5	5	0.1
Rp. 4	10	5	5	1.0
Rp. 5	10	20	1	0.1
Rp. 6	10	20	1	1.0
Rp. 7	10	20	5	0.1
Rp. 8	10	20	5	1.0
Rp. 9	15	20	1	0.1
Rp. 10	15	20	1	1.0
Rp. 11	15	20	5	0.1
Rp. 12	15	20	5	1.0
Rp. 13	15	5	1	0.1
Rp. 14	15	5	1	1.0
Rp. 15	15	5	5	0.1
Rp. 16	15	5	5	1.0

**Table 2** Experimental values of the  $T_1$  and  $D$  of water in PAA–HEMA hydrogels

Formulation number	$T_1$ (s)	$D$ ( $\times 10^{-10}$ m <sup>2</sup> /s)
Rp. 1	2.26 $\pm$ 0.02	20.91 $\pm$ 1.98
Rp. 2	2.20 $\pm$ 0.13	18.84 $\pm$ 0.37
Rp. 3	2.12 $\pm$ 0.09	17.82 $\pm$ 0.27
Rp. 4	2.17 $\pm$ 0.03	16.89 $\pm$ 0.62
Rp. 5	2.20 $\pm$ 0.01	17.64 $\pm$ 0.42
Rp. 6	2.17 $\pm$ 0.15	17.21 $\pm$ 0.53
Rp. 7	2.13 $\pm$ 0.10	17.95 $\pm$ 0.51
Rp. 8	2.13 $\pm$ 0.10	19.45 $\pm$ 0.84
Rp. 9	1.80 $\pm$ 0.11	15.72 $\pm$ 1.15
Rp. 10	1.87 $\pm$ 0.04	15.90 $\pm$ 1.47
Rp. 11	1.84 $\pm$ 0.11	15.82 $\pm$ 1.30
Rp. 12	1.85 $\pm$ 0.12	15.14 $\pm$ 0.54
Rp. 13	1.96 $\pm$ 0.08	16.32 $\pm$ 0.87
Rp. 14	1.93 $\pm$ 0.07	16.01 $\pm$ 0.69
Rp. 15	1.93 $\pm$ 0.07	14.39 $\pm$ 0.62
Rp. 16	1.89 $\pm$ 0.12	15.60 $\pm$ 0.33

Each value represents the mean  $\pm$  S.D. of three determinations.

**Table 3** Significant relationships from the ANOVA table for the  $T_1$  of water in PAA–HEMA hydrogel

Factors	DF <sup>a</sup>	MS <sup>b</sup>	Fo <sup>c</sup>
A; Polymer concentration	1	1.003	127.21 **
B; HEMA modification	1	0.044	5.61 *

<sup>a</sup>Degrees of freedom, <sup>b</sup>Mean square, <sup>c</sup>Observed  $F$  value, \*\* $P < 0.01$ , \* $P < 0.05$

**Table 4** Significant relationships from the ANOVA table for the  $D$  of water in a PAA–HEMA hydrogel

Factors	DF <sup>a</sup>	MS <sup>b</sup>	Fo <sup>c</sup>
A; Polymer concentration	1	89.13	79.02 **
B; HEMA modification	1	0.72	0.64
C; UV exposure time	1	5.67	5.02 *
B x C	1	16.11	14.28 **

<sup>a</sup>Degrees of freedom, <sup>b</sup>Mean square, <sup>c</sup>Observed  $F$  value, \*\* $P < 0.01$ , \* $P < 0.05$

**Table 5** Experimental values of the gel properties of PAA–HEMA hydrogels

Formulation number	Gel fraction (%)	Degree of swelling	Gel strength [Log(Pa)]	Removed fluid (%)
Rp. 1	82.1 ± 3.2	115.3 ± 8.4	0.00 ± 0.00	9.01 ± 0.28
Rp. 2	91.6 ± 0.7	148.1 ± 29.8	2.79 ± 2.31	5.83 ± 1.86
Rp. 3	82.9 ± 5.2	494.9 ± 87.0	2.96 ± 2.17	9.17 ± 0.33
Rp. 4	97.6 ± 4.6	567.2 ± 37.0	3.23 ± 2.13	6.25 ± 0.61
Rp. 5	57.7 ± 15.5	334.3 ± 57.8	3.28 ± 2.34	5.82 ± 0.48
Rp. 6	77.9 ± 3.4	300.4 ± 9.0	3.60 ± 2.23	4.71 ± 0.16
Rp. 7	62.1 ± 1.4	275.7 ± 36.4	3.79 ± 2.13	5.60 ± 0.16
Rp. 8	79.8 ± 1.5	294.9 ± 5.1	4.27 ± 2.14	4.87 ± 0.72
Rp. 9	62.4 ± 10.8	153.9 ± 6.6	4.32 ± 2.25	3.41 ± 0.51
Rp. 10	84.4 ± 2.4	158.2 ± 3.1	4.33 ± 2.23	3.04 ± 0.28
Rp. 11	79.7 ± 2.2	111.5 ± 2.2	4.87 ± 2.11	2.81 ± 0.35
Rp. 12	90.3 ± 0.4	128.3 ± 8.8	5.20 ± 2.14	3.37 ± 0.57
Rp. 13	82.1 ± 10.7	302.9 ± 65.9	2.65 ± 2.22	5.44 ± 0.20
Rp. 14	86.7 ± 5.4	264.0 ± 17.2	3.21 ± 2.16	4.46 ± 0.54
Rp. 15	74.7 ± 3.0	299.8 ± 25.2	3.57 ± 2.12	4.85 ± 0.39
Rp. 16	92.6 ± 3.9	389.6 ± 24.9	3.86 ± 2.16	3.52 ± 0.46

Each value represents the mean ± S.D. of three determinations.

Figure 1

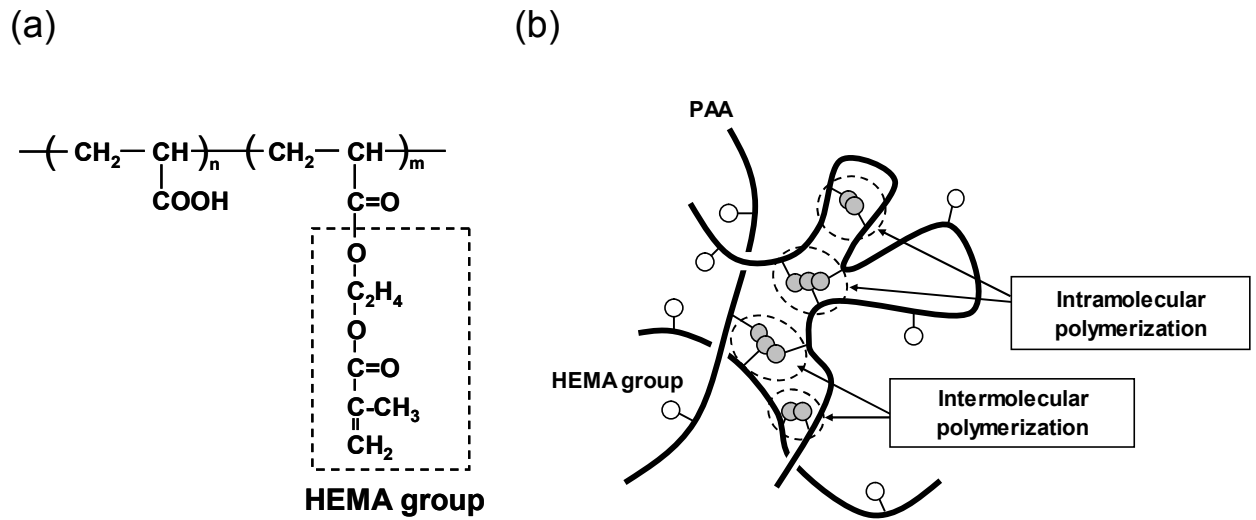


Fig. 1. Photoreactive PAA and photocrosslinked PAA hydrogel: (a) chemical structure of PAA modified with HEMA; (b) photogelation mechanism by the formation of crosslinked PAA networks by intermolecular and intramolecular polymerization of HEMA groups in PAA molecules.

Figure 2

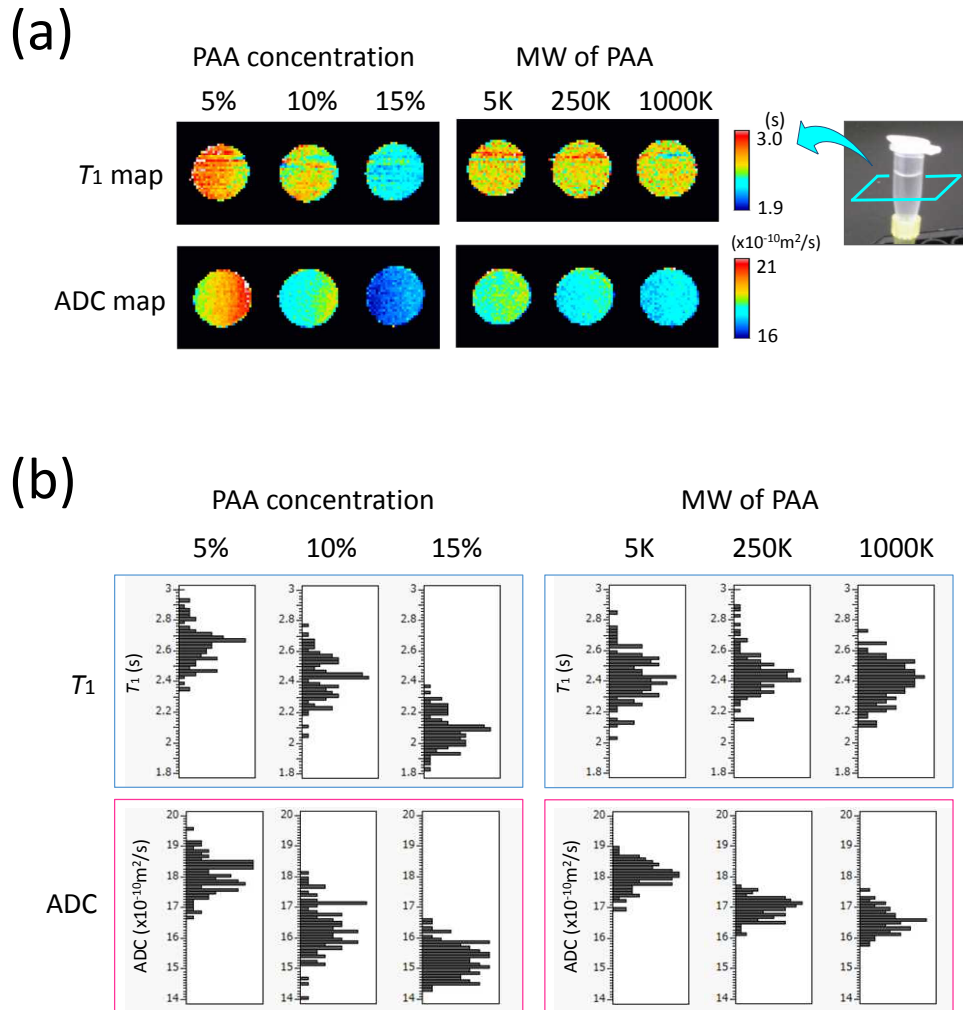


Fig. 2. Effect of the concentration and MW of polymers on MR parameters. (a)  $T_1$  and ADC maps of PAA aqueous solutions. For sample preparation, to investigate the effect of polymer concentration, PAA-25K were dissolved in purified water with the concentrations ranging from 5 to 15%, while to investigate that of MW, PAA with different MWs, 5K to 1000K, were dissolved at the concentration of 10%. Axial images of the test solutions filled in the tube were acquired for the construction of the maps. Red or blue regions indicated higher or lower values of MR parameters, respectively. (b) Histograms of  $T_1$  and ADC, which were constructed by random sampling of 100 of MR parameters from each the maps.

Figure 3

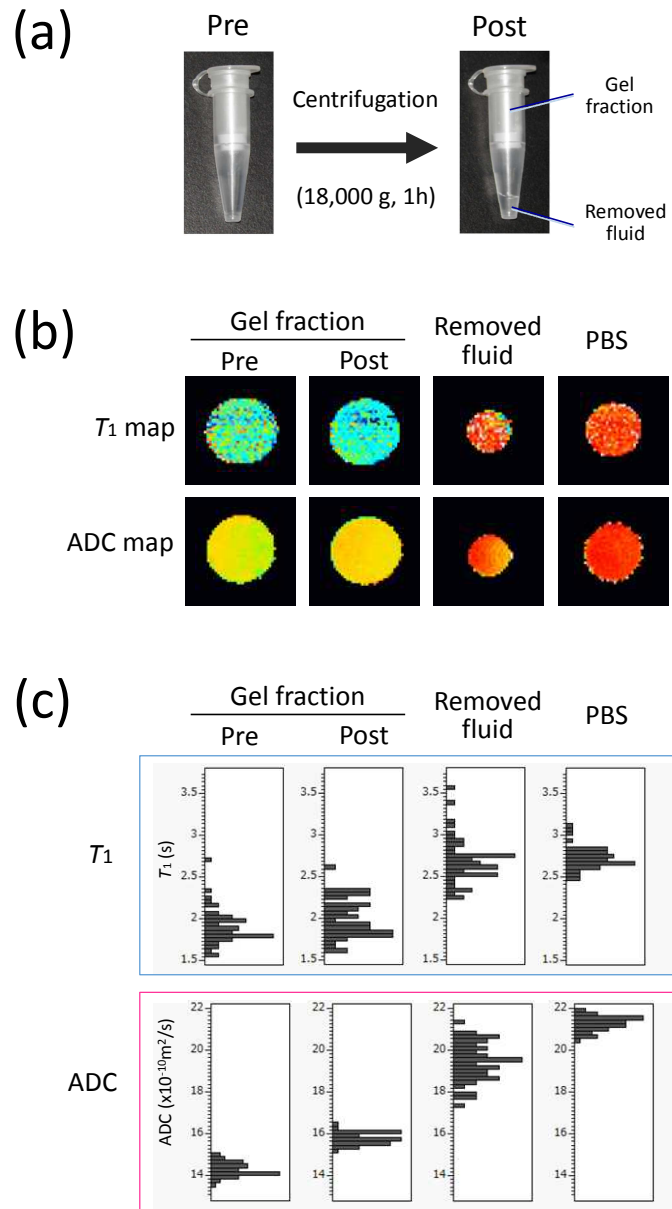


Fig. 3. Water states in gel and fluid fractions separated by centrifugation protocol. The PAA–HEMA hydrogel in the filter was centrifuged at  $18,000 \times g$  for 1 h at  $22 \text{ }^\circ\text{C}$  to separate gel and fluid fractions. (b) Axial images of each fraction pre- and postcentrifugation were acquired, and then their  $T_1$  and ADC maps were constructed. Red or blue regions indicate higher or lower values of the MR parameters, respectively. (c) Histograms of  $T_1$  and ADC. These were constructed by random sampling of 50 MR parameters from each of the maps.

Figure 4

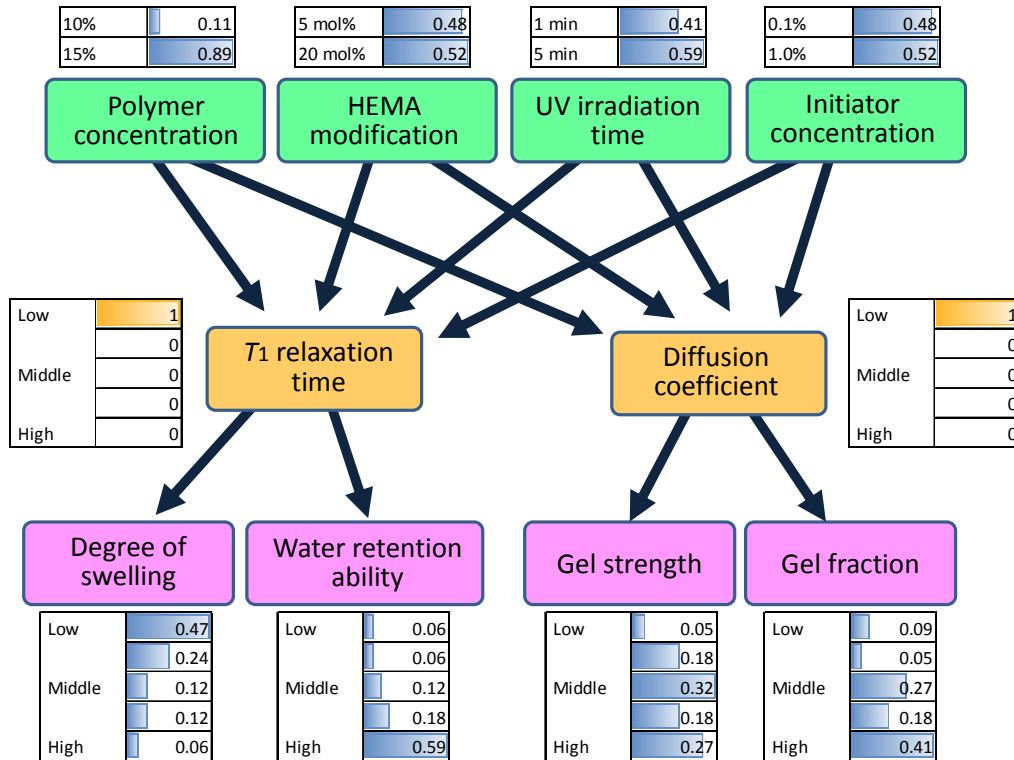


Fig. 4. BN representing the relationships among formulation factors, MR parameters, and the gel properties of the PAA–HEMA hydrogel. The network was constructed by ML estimation. The arrows from node to node represent conditional dependencies; nodes that are not connected represent variables that are conditionally independent of each other. CBTs of variables inferred by the BN were also shown in this figure. Input values for the probability inference were as follows; 100% of the lowest level of T1 and D.

## **Nondestructive evaluation of properties of hydrogels for use in dermatological patch adhesive based on magnetic resonance imaging**

Yoshinori Onuki

Department of Pharmaceutics, Hoshi University  
2-4-41 Ebara, Shinagawa, Tokyo 142-8501, Japan  
Tel: 03-5498-5783

### Abstract

Currently, various hydrogels are used as adhesives for dermatological patches that are used for local inflammation therapy and as wound dressings. There is a wide variety of important gel properties for dermatological patch adhesives. Photocrosslinked polyacrylic acid hydrogel is a promising candidate for use in dermatological patch adhesives; it can retain a large amount of water while maintaining its mechanical strength. To gain further knowledge about the gel's properties, this study investigated the  $T_1$  relaxation time ( $T_1$ ) and the diffusion coefficient ( $D$ ) of water in the hydrogels using magnetic resonance imaging (MRI). Hydrogels with different formulation factors were prepared and tested. The observed data were analyzed by analysis of variance, and this clarified the mode of actions of formulation factors on these MR parameters. Various gel properties (i.e., gel fraction, swelling property, gel strength, and water-retention ability) were also measured, and then a Bayesian network (BN) analysis was performed. The BN allowed us to summarize well, the relationships between the MR parameters, formulation factors, and gel properties.  $T_1$  was associated with the swelling properties and water-retention properties of the hydrogel, whereas  $D$  was associated with gel formation and gel strength. Furthermore, this study clarifies that  $T_1$  and  $D$  mostly represented the hydration effect of and water compartmentalization effect of the hydrogel, respectively. In conclusion, the state of water plays an important role in the properties of the PAA–HEMA hydrogel. This study provided further insight into the properties of the PAA–HEMA hydrogel and may offer valuable information for formulation studies of dermatological patch adhesives.