

Nghiên cứu tính chất lưu biến của hệ ba thành phần polysorbat 80 - alcol béo – nước

Trần Hữu Hưng¹, Lại Văn Đông²
Nguyễn Thị Minh Huệ³, Vũ Đặng Hoàng^{4*}

¹ Bộ môn Hóa, Đại học Kiến trúc Hà Nội

² Khoa Dược, Cao đẳng Y tế Thái Bình

³ BM Hoá lý thuyết và Hoá lý, Khoa Hoá học - Trường Đại học Sư phạm Hà Nội

⁴ Bộ môn Hóa phân tích và Độc chất, Trường Đại học Dược Hà Nội

Summary

Rheological study was performed using a cone-and-plate geometry (4 cm, 4°) to monitor the consistency of polysorbate 80 – fatty alcohol – water ternary systems aged for 2 months at ambient temperature. All the systems were shear-thinning and their flow curves well fitted to the power law model ($R^2 > 0.9$). Their apparent viscosity (calculated at 100 s⁻¹) initially increased over the first week after preparation, followed by slight changes on further storage. Discrete retardation spectra from creep data was calculated, suggesting that creep compliance of all the systems could be at least represented by a six-element generalized Kelvin-Voigt model ($R^2 > 0.8$). During storage time, all the systems had predominant elastic behavior ($G''/G' < 1$) and the viscous component built up more quickly than the elastic one ($\tan \delta$ increased). Moreover, the cetostearyl alcohol system exhibited the highest viscoelastic creep behavior; whereas the cetyl alcohol system was physically unstable.

Keywords: Rheology, ternary system, polysorbate, fatty alcohol, flow curve, oscillation, creep and recovery, viscoelasticity.

Đặt vấn đề

Trong lĩnh vực dược và mỹ phẩm, nhũ tương và các hệ phân tán không chứa dầu hay được sử dụng để điều trị các bệnh ngoài da và làm đẹp [1]. Các sản phẩm này được mô tả là sữa dưỡng (lotion) hoặc dầu xoa (liniment) và kem (cream). Về cấu trúc, chúng có thể chất lỏng hoặc bán rắn trong thành phần có chứa chất diện hoạt. Các loại chế phẩm bán rắn chủ yếu là kem bôi da thường là: nhũ tương dạng dầu trong nước (kem thân nước) hoặc nhũ tương nước trong dầu (kem thân dầu) và một số loại chất mang khác (vehicle) có thể thoa được lên da.

Trong lĩnh vực bào chế, kem bôi da có chứa các chất diện hoạt không ion có ưu điểm nổi bật: không gây kích ứng da và phù hợp với nhiều loại dược chất. Polysorbate (tên thương mại Tween) là một nhóm chất diện hoạt

đã được nghiên cứu nhiều trong bào chế thuốc dùng ngoài da [4, 6-13].

Nghiên cứu này được tiến hành nhằm đánh giá độ ổn định vật lý trong quá trình bảo quản của hệ ba thành phần polysorbat 80 – alcol béo – nước bằng các kỹ thuật đo lưu biến: trượt liên tục (continuous shear flow), dao động (oscillation), dãn và hồi phục (creep and recovery).

Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

Công thức và phương pháp bào chế hệ ba thành phần

Alcol béo (cetyl và stearyl) và chất diện hoạt không ion (polysorbat 80) được Croda (Singapore) cung cấp. Hệ ba thành phần “chất diện hoạt – alcol béo – nước” (bảng 1) được điều chế khi thêm dần hỗn hợp nóng chảy (alcol béo và chất diện hoạt) vào nước ở 70°C, có khuấy trộn trong 10 phút bằng máy Overhead Stirrer (VELP Scientifica, Mỹ) với tốc độ 700 vòng/phút; tiếp tục khuấy trộn với tốc độ 300 vòng/phút cho đến khi hệ đạt nhiệt độ phòng. Mẫu kem bôi da được điều chế có màu trắng sáng, thể chất bán rắn.

Chịu trách nhiệm: Vũ Đặng Hoàng

Email: hoangvd@hup.edu.vn

Ngày nhận: 07/12/2020

Ngày phân biện: 31/3/2021

Ngày duyệt bài: 24/8/2021

**Bảng 1. Thành phần của hệ ba thành phần
“chất điện hoạt – alcol béo – nước”**

Nguyên liệu	Khối lượng (g)		
	TSC18	TSCSA	TSC16
Polysorbat 80	4	4	4
Cetyl alcohol	0	8	16
Stearyl alcohol	16	8	0
Nước cất hai lần	180	180	180
Tổng	200	200	200

Lựa chọn thông số đo lưu biến

Tiến hành đo mẫu với hệ cảm ứng nón-đĩa (cone 4 cm, 4°) ở nhiệt độ 25°C bằng máy đo lưu biến Discovery Hybrid Rheometer (TA Instruments, Anh). Với kỹ thuật đo trượt liên tục (continuous shear flow), mẫu chịu tác động của ứng suất trượt (shear stress) khi thay đổi tốc độ trượt (shear rate) từ 0,3 đến 100 s⁻¹ trong hai chu kỳ liên tiếp (tăng và giảm tốc độ trượt). Hai yếu tố lần lượt được khảo sát là lượng mẫu và thời gian đo của một chu kỳ. Thời gian cân bằng là 3 phút (mẫu được để yên trước khi phép đo bắt đầu). Với phép đo dao và hồi phục, để xác định vùng tuyến tính nhớt-đàn hồi mẫu được đo dao trong 5 phút với ứng suất trong khoảng 0,5 – 9 Pa. Nếu đáp ứng tuyến tính được duy trì trong khoảng thời gian ngắn này, các mẫu được đo dao với ứng suất hằng định là 1 Pa trong 1 giờ và đo hồi phục trong 1 giờ (sau khi đã loại bỏ ứng suất) để kiểm tra lại vùng tuyến tính nhớt-đàn hồi. Với phép đo dao động, để xác định vùng tuyến tính nhớt-đàn hồi mẫu được đo tại một số tần số trong khoảng 1 đến 10 Hz khi ứng suất được quét trong khoảng 0,1 - 100 Pa. Ứng suất 5 Pa được chọn cho chế độ đo quét tần số trong khoảng 0,01 – 10 Hz. Mỗi mẫu được đo lặp lại 3 lần trong thời gian 2 tháng được bảo quản ở nhiệt độ phòng (RSD < 3%).

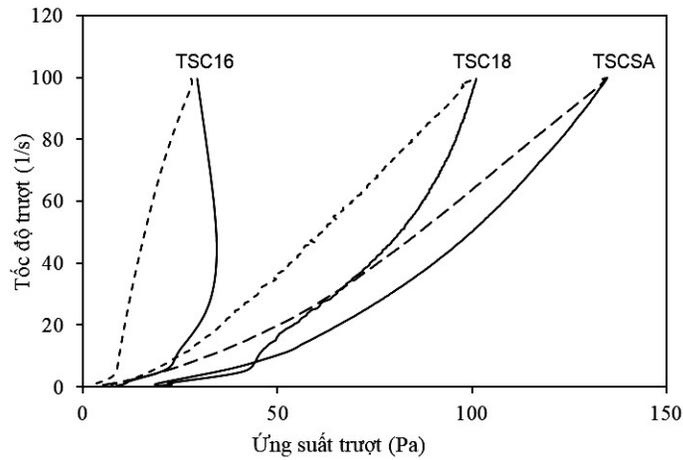
Kết quả và bàn luận

Khảo sát ảnh hưởng của lượng mẫu và thời gian đến kỹ thuật đo trượt các mẫu kem

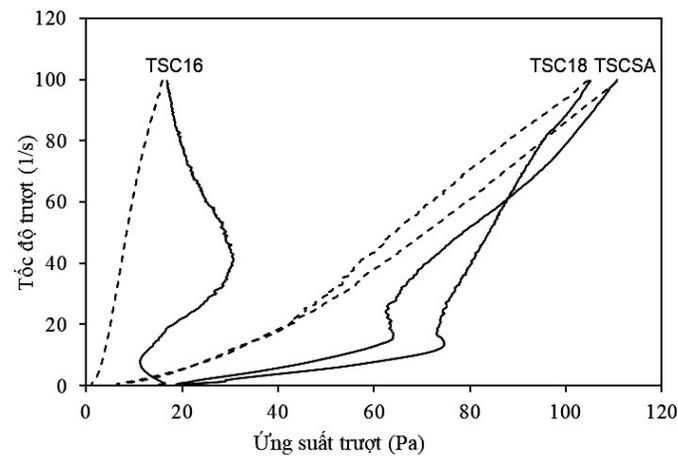
Khảo sát ảnh hưởng của lượng mẫu (vừa đủ, thiếu hoặc dư khoảng 20%) và thời gian đo mỗi chu kỳ (50 – 300 s) đến kỹ thuật đo trượt liên tục

với các mẫu kem. Kết quả cho thấy đường cong chảy có độ lặp tốt (RSD < 3%, n = 5) khi lượng mẫu vừa đủ là 1,4 mL (sử dụng xi-lanh nhựa dung tích 10 mL được cắt cụt ngang phần đầu để nạp mẫu). Thay đổi thời gian đo của mỗi chu kỳ không làm thay đổi đáng kể diện tích của đường cong chảy. Tuy nhiên, khi thời gian đo của chu kỳ là 300 giây số các giá trị ứng suất đo được là lớn nhất (gần 600 giá trị).

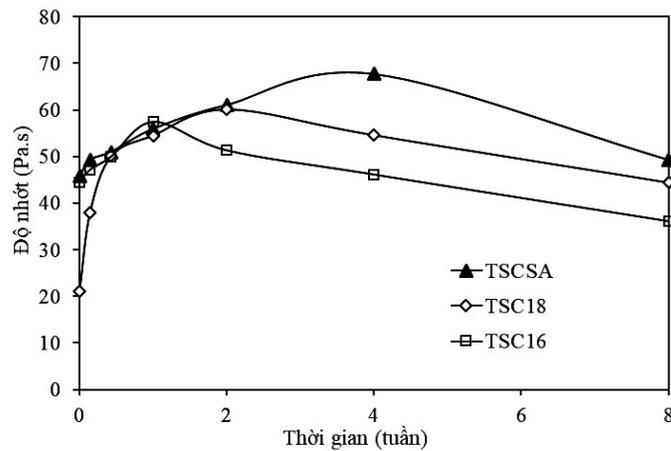
Hình 1 và 2 biểu diễn đường cong chảy (flow curve) của các mẫu kem ngay sau khi bào chế và sau 2 tháng bảo quản ở nhiệt độ phòng. Các đường cong chảy đều có dạng vòng trễ (hysteresis loop) ngược chiều kim đồng hồ (đường tăng tốc độ trượt ở bên tay phải đường giảm tốc độ trượt). Điều này chứng tỏ các mẫu đều có tính chất xúc biến (thixotropy): giảm độ nhớt khi tăng tốc độ trượt và phục hồi cấu trúc khi tốc độ trượt giảm (còn được gọi là sự chảy lỏng - chuyển trạng thái từ gel sang sol). Ở trạng thái nghỉ, các phần tử trong hệ liên kết với nhau nhờ các lực liên kết yếu như hydro, Van der Waals. Vì cấu trúc của hệ bị thay đổi khi những liên kết này dễ dàng bị phá vỡ khi tăng tốc độ trượt và được tái thiết lập khi giảm tốc độ trượt. Tuy nhiên, hệ không trở lại trạng thái ban đầu (được thể hiện qua sự khác biệt của các giá trị ứng suất trượt tương ứng ở chu kỳ tăng và giảm tốc độ trượt). Nhìn chung, hầu hết các đường cong chảy của các mẫu có thể được biểu diễn bằng mô hình luật lũy thừa (power law model) $\sigma = k \cdot \dot{\gamma}^n$ (trong đó: σ là độ nhớt, k là hằng số tương ứng với độ nhớt đo tại 1 s⁻¹, $\dot{\gamma}$ là tốc độ trượt, n là số mũ) với R² > 0,90 (ví dụ: bảng 1). Biến thiên giá trị của độ nhớt nhớt biểu kiến (tại tốc độ trượt 100 s⁻¹) và điểm khởi lưu (yield stress) của các mẫu kem theo thời gian bảo quản được trình bày lần lượt ở hình 3 và 4. Sau khi bào chế, độ nhớt của các mẫu kem tăng mạnh trong tuần đầu tiên (TSC18 và TSC16) hoặc trong tháng đầu tiên (TSCSA) và giảm dần trong quá trình bảo quản tiếp theo.



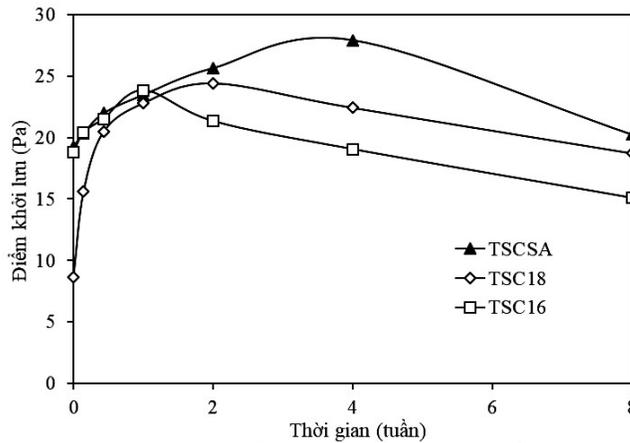
Hình 1. Đường cong chảy của các mẫu kem ngay sau khi bào chế (nét liền: tăng tốc độ trượt; nét đứt: giảm tốc độ trượt)



Hình 2. Đường cong chảy của các mẫu kem 2 tháng sau khi bảo quản ở nhiệt độ phòng (nét liền: tăng tốc độ trượt; nét đứt: giảm tốc độ trượt)



Hình 3. Biến thiên giá trị độ nhớt biểu kiến (tại tốc độ trượt 100 s^{-1}) của các mẫu kem theo thời gian



Hình 4. Biến thiên giá trị điểm khối lưm của các mẫu kem theo thời gian

Bảng 1. Phương trình biểu diễn đường cong chảy của các mẫu kem ngay sau khi bào chế theo mô hình luật lũy thừa

Mẫu	Phương trình (R^2)	
	Tăng tốc độ trượt	Giảm tốc độ trượt
TSCSA	$\sigma = 17,3121 \times \dot{\gamma}^{0,4466}$ (0,999)	$\sigma = 7,8545 \times \dot{\gamma}^{0,6146}$ (0,999)
TSC18	$\sigma = 19,2064 \times \dot{\gamma}^{0,3652}$ (0,989)	$\sigma = 5,0703 \times \dot{\gamma}^{0,6421}$ (0,996)
TSC16	$\sigma = 18,7862 \times \dot{\gamma}^{0,1317}$ (0,595)	$\sigma = 1,9877 \times \dot{\gamma}^{0,5546}$ (0,935)

Lựa chọn thông số đo lưu biến

Kết quả phép đo dao trong khoảng thời gian ngắn (5 phút) cho thấy vùng tuyến tính nhớt-đàn hồi (viscoelastic linear region) của phép đo này có thể được đảm bảo với ứng suất 0,5 – 8 Pa (ví dụ: hình 5 A và B, bảng 2). Do vậy, ứng suất 1 Pa được chọn cho phép đo dao của các hệ TSCSA và TSC18 trong khoảng thời gian bảo quản từ 1 tuần đến 2 tháng (hình 6). Ngược lại, kết quả thực nghiệm không xác định được rõ ràng khoảng ứng suất đảm bảo tính tuyến tính cho phép đo dao với hệ TSC16 được bảo quản sau 1 tháng.

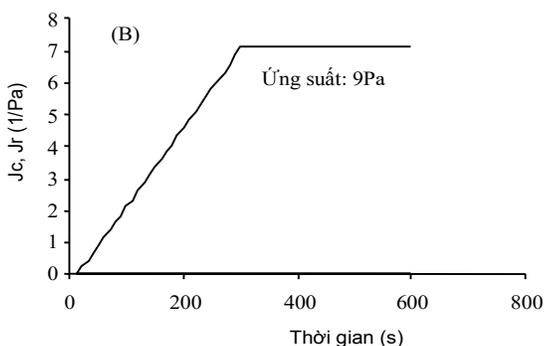
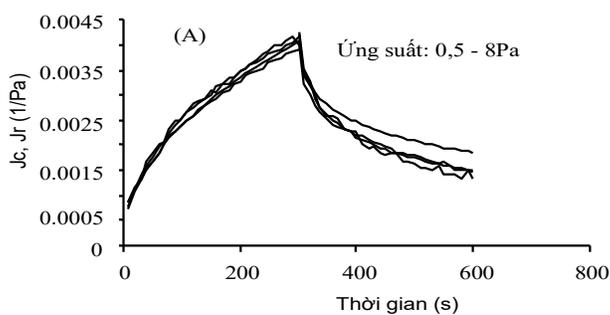
Theo lý thuyết, mô hình mô phỏng các chất nhớt-đàn hồi (như kem bôi da) là sự kết hợp của các đơn vị Maxwell và Kelvin-Voigt. Đường cong tính thuận đảo – thời gian có thể biểu diễn bằng phương trình sau:

$$J(t) = J_0 + \sum_{i=1}^n J_i (1 - e^{-t/\tau_i}) + t / \eta_0 \quad (1)$$

Trong đó: J là tổng tính thuận đảo tại thời điểm t ; J_0 là hằng số (tính thuận trượt còn dư - residual shear compliance); J_i là tính thuận trượt

của phần đàn hồi của đơn vị Voigt thứ i ; τ_i là thời gian trễ của đơn vị Voigt thứ i ; η_0 là độ nhớt trượt còn dư (residual shear viscosity). Các hằng số trong phương trình (1) có thể được xác định bằng phương pháp đồ thị do Inokuchi đề xuất [5].

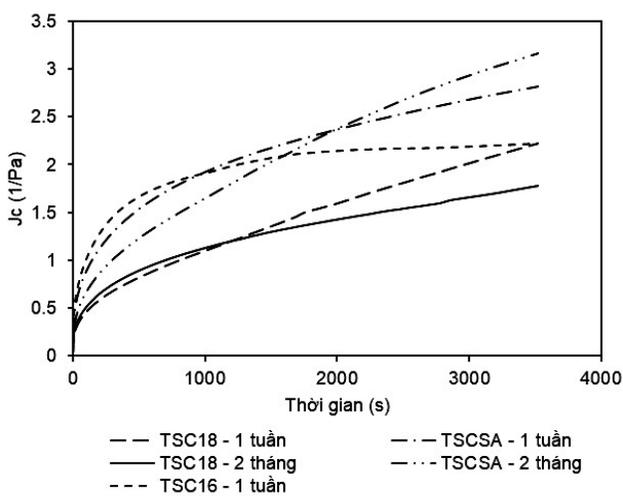
Bảng 3 trình bày dữ liệu truy suất từ kết quả phân tích “phổ trễ gián đoạn” (discrete retardation spectrum) sử dụng phần mềm TRIOS (TA Instruments, Anh) cho đường cong dao – thời gian của các mẫu thử trong khi bảo quản 2 tháng. Kết quả cho thấy có thể sử dụng 6 – 7 đơn vị Voigt để mô phỏng các mẫu được khảo sát với $R^2 > 0,8$. Với mẫu TSCSA và TSC18, độ nhớt η_0 (có thể tính bằng nghịch đảo của độ dốc của đường thẳng biểu diễn mối quan hệ tuyến tính “logarithm tự nhiên của J_c – thời gian”), độ đàn hồi J_i của các đơn vị Voigt và J_e (có thể tính bằng cách ngoại suy để có được giá trị $\gamma_s(0)^{[2]}$) tăng đáng kể trong thời gian bảo quản từ 1 tuần đến 2 tháng. Điều này chứng tỏ độ vững chắc (consistency) của hệ ba thành phần được hình thành chủ yếu trong quá trình bảo quản. TSCSA có tính nhớt - đàn hồi nhiều hơn TSC18 (J_c luôn lớn hơn tại mọi điểm đo trên đường cong dao). Mặc dù có độ nhớt η_0 là lớn nhất sau khi bảo quản 1 tuần, cấu trúc của TSC16 đã không duy trì được độ ổn định vật lý sau 2 tháng bảo quản (không xác định được vùng tuyến tính nhớt-đàn hồi). Kết quả này cũng phù hợp với nhận xét TSC16 có bề mặt trở nên trắng đục và bị chảy lỏng (khi quan sát bằng mắt thường) sau 2 tháng bảo quản. Kết quả của phép đo dao cũng phù hợp với phép đo trượt liên tục (các mẫu khảo sát đều có điểm khối lưm): Đáp ứng ở trạng thái ổn định (steady - state response) đều không xuất hiện trên đường cong dao.



Hình 5. Kiểm tra vùng tuyến tính (A) và không tuyến tính (B) nhớt - đàn hồi của phép đo dao với TSCSA trong khoảng thời gian ngắn (5 phút)

Bảng 2. Kiểm tra vùng tuyến tính nhớt - đàn hồi của phép đo dao trong khoảng thời gian ngắn (5 phút) với TSCSA

Ứng suất (Pa)	Biến dạng	Tính thuận (1/Pa)
0,5	0,0200	0,0040
1	0,0039	0,0039
2	0,0082	0,0041
4	0,0156	0,0039
8	0,0320	0,0040



Hình 6. Đường cong dao của các mẫu thử trong khi bảo quản 2 tháng

Bảng 3. Phương trình biểu diễn đường cong dao của các mẫu thử trong 2 tháng bảo quản

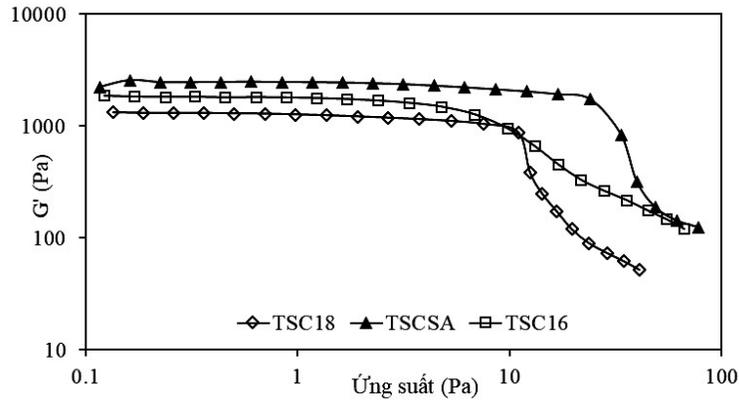
Mẫu	Thời gian	Phương trình đường cong dao; tính thuận cân bằng; hệ số xác định
TSCSA	1 tuần	$J(t) = -0,000259 + 0,002375 \times (1 - e^{-t/0,236}) + 0,001838 \times (1 - e^{-t/7,415}) + 0,000001 \times (1 - e^{-t/60,74}) + 0,002766 \times (1 - e^{-t/61,00}) + 0,000001 \times (1 - e^{-t/61,45}) + 0,004616 \times (1 - e^{-t/287,1}) + 0,008178 \times (1 - e^{-t/955,2}) + t/410451;$ $J_e = 0,019773 (1/\text{Pa}); R^2 = 0,997$
	2 tháng	$J(t) = -0,000002 + 0,000554 \times (1 - e^{-t/0,010}) + 0,000559 \times (1 - e^{-t/0,194}) + 0,000878 \times (1 - e^{-t/1,589}) + 0,001453 \times (1 - e^{-t/14,04}) + 0,004158 \times (1 - e^{-t/135,3}) + 0,043996 \times (1 - e^{-t/4433}) + t/231471;$ $J_e = 0,051639 (1/\text{Pa}); R^2 = 0,803$
TSC18	1 tuần	$J(t) = -0,000004 + 0,000504 \times (1 - e^{-t/0,013}) + 0,000417 \times (1 - e^{-t/0,181}) + 0,000411 \times (1 - e^{-t/1,009}) + 0,000532 \times (1 - e^{-t/4,909}) + 0,000933 \times (1 - e^{-t/25,31}) + 0,002594 \times (1 - e^{-t/159,3}) + 0,043135 \times (1 - e^{-t/7149}) + t/23885500000; J_e = 0,048525; R^2 = 0,999$
	2 tháng	$J(t) = -0,000021 + 0,000633 \times (1 - e^{-t/0,021}) + 0,000577 \times (1 - e^{-t/0,425}) + 0,000668 \times (1 - e^{-t/3,216}) + 0,001013 \times (1 - e^{-t/19,15}) + 0,002070 \times (1 - e^{-t/117,9}) + 0,005153 \times (1 - e^{-t/608,7}) + t/466117;$ $J_e = 0,010113 (1/\text{Pa}); R^2 = 0,999$
TSC16	1 tuần	$J(t) = -0,000013 + 0,001525 \times (1 - e^{-t/0,076}) + 0,001819 \times (1 - e^{-t/1,377}) + 0,001892 \times (1 - e^{-t/9,748}) + 0,001807 \times (1 - e^{-t/35,72}) + 0,005763 \times (1 - e^{-t/146,9}) + 0,024594 \times (1 - e^{-t/1318}) + t/9859020;$ $J_e = 0,037401 (1/\text{Pa}); R^2 = 0,999$

Với kỹ thuật đo dao động, vùng tuyến tính nhớt-đàn hồi của các mẫu TSCSA và TSC18 trong thời gian bảo quản 2 tháng được xác nhận với phép đo dao động khi ứng suất trong khoảng 1 – 10 Pa (hình 7). Tuy nhiên, vùng này không thể xác định rõ ràng với mẫu TSC16 sau 2 tháng bảo quản (các giá trị G' không hằng định khi quét ứng suất trong khoảng 1 – 10 Pa).

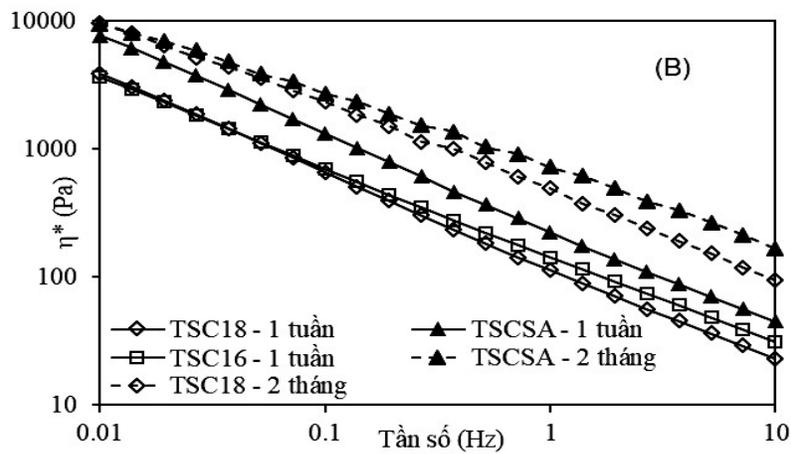
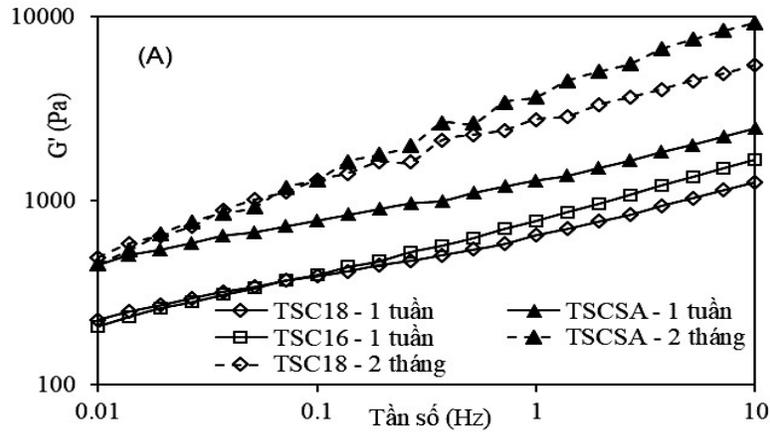
Hình 8 A và B lần lượt biểu diễn sự biến thiên mô-đun đàn hồi (storage modulus - G') và độ nhớt phức hợp (complex viscosity - η^*) của các mẫu trong phép đo dao động quét tần số. Kết quả cho thấy khi tần số tăng, G' tăng và η^* giảm gần một cách đơn điệu trên thang đo logarit. Các giá trị G' và η^* của TSCSA luôn cao hơn của TSC18 và TSC16 trong khoảng tần số 0,01 – 10 Hz. Trong quá trình 2 tháng bảo quản, độ vững chắc của TSCSA và TSC18 tăng rõ rệt (G' và η^* đo được trong khoảng tần số 0,1 – 10 Hz tăng mạnh). Điều này tái khẳng định nhận xét của phép đo trượt liên tục và đảo: cấu trúc của hệ ba thành phần chủ yếu được hình thành trong quá trình bảo quản. Theo lý thuyết về cấu trúc mạng gel (the gel network theory)

do Eccleston đề xuất [3], hệ ba thành phần polysorbat 80 – alcol béo – nước có cấu trúc mạng gel với ít nhất ba pha cùng tồn tại: (i) pha gel thân nước bao gồm các lớp kép của chất diện hoạt và alcol béo; và nước được cố định giữa các lớp kép (nước liên kết); (ii) nước tự do cân bằng với nước liên kết trong pha gel thân nước; (iii) pha gel thân dầu được tạo thành từ lượng alcol béo dư, không tham gia tạo pha gel thân nước. Do quá trình hydrat hóa của các chuỗi polyoxyethylene trong phân tử polysorbat 80 thường diễn ra chậm ở điều kiện nhiệt độ phòng, cấu trúc của mạng gel được hình thành chủ yếu trong quá trình bảo quản cùng với sự tái phân bố các phân tử polysorbat 80 trong mạng gel.

Đáng chú ý tang tổn thất (loss tangent = $\tan \delta = G''/G'$) của các mẫu đều < 1 chứng tỏ hệ ba thành phần có đặc tính đàn hồi chiếm ưu thế trong quá trình bảo quản. Giá trị $\tan \delta$ tăng khi cả G' và G'' đều tăng có nghĩa là G'' tăng nhanh hơn G' (thành phần độ nhớt được tạo thành nhanh hơn so với thành phần đàn hồi trong TSCSA và TSC18).



Hình 7. Kiểm tra vùng tuyến tính nhớt-đàn hồi cho phép đo dao động với tần số 10Hz cho các mẫu sau khi bảo quản 1 tuần



Hình 8. Biến thiên mô-đun đàn hồi - G' (A) và độ nhớt phức hợp $\eta^* = \frac{\sqrt{G'^2 + G''^2}}{\omega}$ (B) trong phép đo dao động quét tần số của các mẫu trong quá trình bảo quản 2 tháng

Kết luận

Các kỹ thuật đo lưu biến (trượt liên tục, đảo và hồi phục, dao động) đã được ứng dụng để theo dõi độ ổn định vật lý của hệ ba thành phần polysorbat 80 – alcol béo – nước. Kết quả đo lưu biến cho thấy độ nhớt của các hệ đều tăng đáng kể trong tuần đầu tiên, và độ vững chắc (độ nhớt và độ đàn hồi) được dần hình thành thêm trong quá trình bảo quản. Sau 2 tháng bảo quản, TSCSA là hệ có độ vững chắc tốt nhất, tồn tại ở dạng kem màu trắng thể bán rắn có đặc tính xúc biến; ngược lại, TSC16 bị chảy lỏng không thể xác định được chính xác các đặc tính nhớt-đàn hồi. Dữ liệu lưu biến trong nghiên cứu này sẽ góp phần tối ưu hóa công thức cũng như dự đoán khả năng giải phóng hoạt chất *in vitro* của dạng bào chế kem bôi da được phát triển dựa trên hệ ba thành phần polysorbat 80 – alcol béo – nước.

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Phát triển khoa học và công nghệ Quốc gia (NAFOSTED) trong đề tài mã số 104.99-2016.39.

Tài liệu tham khảo

1. Nguyễn Thu Hiền, *Dược mỹ phẩm và làn da*, <https://suckhoedoisong.vn/duoc-my-pham-va-lan-da-n57881.html> (truy cập ngày 25-02-2021).
2. Trần Hữu Hưng, Lại Văn Đông, Nguyễn Thị Minh Huệ, Vũ Đặng Hoàng (2021), “Ứng dụng phép đo lưu biến trong đánh giá độ ổn định vật lý của kem bôi da. Phần 1: Tổng quan cơ sở lý thuyết của các kỹ thuật đo”, *Tạp chí Y Dược học*, 19, trang 4-12.
3. Eccleston G. M. (1997), “Functions of mixed emulsifiers and emulsifying waxes in dermatological lotions and creams”, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 123-124, pp. 169-182.
4. Goindi S., Narula M., Kalra A. (2016) “Microemulsion-based topical hydrogels of tenoxicam for treatment of arthritis”, *AAPS Pharm. Sci. Tech.*, 17 (3), pp. 597-606.
5. Inokuchi, K. (1955), “Rheology of surface films. IV Viscoelastic properties of 6-nylon films at air/water interface”, *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 28 (7), pp. 453-465.
6. Kang M. J., Eum J. Y., Jeong M. S. et al (2010), “Facilitated skin permeation of oregonin by elastic liposomal formulations and suppression of atopic dermatitis in NC/Nga mice”, *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 33 (1), pp. 100-106.
7. Khan B. A, Akhtar N., Khan H. et al (2013), “Development, characterization and antioxidant activity of polysorbate based o/w emulsion containing polyphenols derived from Hippophae rhamnoides and Cassia fistula”, *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 49 (4), pp. 763-773.
8. Mahdi E. S., Noor A. M., Sakeena M. H. et al (2011), “Formulation and in vitro release evaluation of newly synthesized palm kernel oil esters-based nanoemulsion delivery system for 30% ethanolic dried extract derived from local *Phyllanthus urinaria* for skin antiaging”, *International Journal of Nanomedicine*, 6, pp. 2499-2512.
9. Radwan S. A. A., ElMeshad A. N., Shoukri R. A. (2017), “Microemulsion loaded hydrogel as a promising vehicle for dermal delivery of the antifungal sertaconazole: design, optimization and ex vivo evaluation”, *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 43 (8), pp. 1351–1365.
10. Sankar V., Praveen C., Prasanth K. G. et al (2009), “Formulation and evaluation of a proniosome hydrocortisone gel in comparison with a commercial cream”, *Pharmazie* 64 (11), pp. 731-734.
11. Sasivimolphan P., Lipipun V., Ritthidej G. et al (2012), “Microemulsion-based oxyresveratrol for topical treatment of herpes simplex virus (HSV) infection: Physicochemical properties and efficacy in cutaneous HSV-1 infection in mice”, *AAPS Pharm. Sci. Tec.*, 13 (4), pp. 1266-1275.
12. Song S. H., Lee K. M., Kang J. B. et al (2014), “Improved skin delivery of voriconazole with a nanostructured lipid carrier-based hydrogel formulation”, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 62 (8), pp. 793-798.
13. Zainol N. A., Ming T. S., Darwis (2015), “Development and characterization of cinnamon leaf oil nanocream for topical application”, *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 77 (4), pp. 422-433.