

Nghiên cứu bào chế và đánh giá khả năng cải thiện tính thấm của gel *Aloe vera* đối với Acyclovir

Lê Thị Minh Nguyệt¹, Hoàng Thị Ngọc Duyên¹, Hồ Hoàng Nhân^{1*}
(1) Khoa Dược, Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế

Tóm tắt:

Đặt vấn đề: Acyclovir (ACV) là dược chất hiện nay được sử dụng rộng rãi trong phòng và điều trị đặc hiệu các bệnh do virus Herpes gây ra. Tuy nhiên, do dược chất có độ tan hạn chế và tính thấm kém nên khả năng thấm thuốc chưa cao. Vì vậy, vấn đề cải thiện tính thấm ACV qua da là cần thiết để tăng hiệu quả điều trị của thuốc khi dùng bôi ngoài da. Trong nghiên cứu này, *Aloe vera* (A.vera) lần đầu tiên đã được sử dụng với vai trò là một tác nhân có khả năng cải thiện tính thấm đối với ACV. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu tiến hành khảo sát nồng độ tá dược tạo gel và nồng độ A.vera ảnh hưởng đến các đặc tính lý hóa, đặc biệt khả năng thấm qua màng *in vitro* và *ex vivo* bằng thiết bị khuếch tán Franz. **Kết quả:** Công thức với ACV 5% (w/w), A.vera 4,5% (w/w), glycerin 5% (w/w) và HPMC 2% (w/w) có các đặc tính lý hóa phù hợp với định hướng dùng để bôi ngoài da và khả năng tăng cường tính thấm tốt nhất so với công thức có nồng độ A.vera khác nhau và công thức kem thương mại chứa ACV 5%. **Kết luận:** Việc nghiên cứu bào chế thành công và ứng dụng A.vera vào dạng gel để làm tăng thấm dược chất ACV là một hướng đi có triển vọng đối với dạng chế phẩm dùng ngoài da.

Từ khóa: Acyclovir, *Aloe vera*, tính thấm.

Abstract

Formulation and permeability evaluation of *Aloe vera* gel containing Acyclovir

Le Thi Minh Nguyen¹, Hoang Thi Ngoc Duyen¹, Ho Hoang Nhan^{1*}
Faculty of Pharmacy, University of Medicine and Pharmacy, Hue University

Background (including purposes): Acyclovir (ACV) is a widely-used drug in the prevention and specific treatment of diseases caused by Herpes virus. However, due to its limited solubility and poor permeability, its therapeutic effectiveness is not high. Therefore, improving the transdermal permeability of ACV is necessary to increase the therapeutic effect of the drug for topical administration. **Materials and methods:** The study investigated the effect of the concentration of gelling agent, and the concentration of *Aloe vera* (A.vera) on the physico-chemical properties, especially the *in vitro* and *ex vivo* permeability by using Franz diffusion cells. **Results:** The formulation with 5% (w/w) of ACV, 4.5% (w/w) of A.vera, 5% (w/w) of glycerin and 2% (w/w) of HPMC K100M had the physico-chemical properties suitable for topical administration and the best permeability enhancement as compared to other formulations with different concentrations of A.vera, and a commercial cream formulation containing 5% (w/w) of ACV. **Conclusion:** A.vera in the gel form was successful prepared and applied to increase the permeability of ACV. This A.vera gel has the potential to develop the formulations for transdermal administration.

Key words: Acyclovir, *Aloe vera*, permeability enhancement.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ VÀ MỤC TIÊU

Hiện nay trên thế giới, các trường hợp nhiễm trùng gây ra bởi virus *Herpes simplex* (HSV) ảnh hưởng đến 60 - 95% dân số trưởng thành. Vì vậy, mục tiêu chính của liệu pháp kháng virus là ức chế sự nhân lên của virus nhằm ngăn ngừa tổn thương biểu mô liên quan [1]. Một trong những thuốc kháng virus được sử dụng phổ biến nhất trên thị trường

Việt Nam hiện nay dùng điều trị các nhiễm trùng gây ra bởi HSV nói chung, đặc biệt là nhiễm trùng HSV trên da là Acyclovir (ACV) [2]. Tuy nhiên, liệu pháp dùng ACV tại chỗ có hiệu quả thấp do tính thấm kém qua lớp biểu bì và độ tan thấp trong hầu hết các dung môi (kị nước hay thân nước). Cho nên, các chế phẩm chứa ACV dạng kem hay thuốc mỡ cần phải dùng 5 - 6 lần trong ngày [3]. Để cải thiện sinh khả

dùng của ACV, giảm số lần dùng thuốc trong ngày, hàng loạt các biện pháp đã được nghiên cứu như dùng tiền thuốc của ACV, dùng dạng bào chế nano (ví như tương chứa ACV, tiểu phân nano, tiền thuốc) hay dùng chất cải thiện tính thấm,... [4, 5]. Trong đó, việc sử dụng các hợp chất thiên nhiên có khả năng làm tăng thẩm thấu là xu hướng ưu tiên lựa chọn hiện nay do an toàn, dễ kiếm và giá thành rẻ hơn so với các chất tăng thẩm thấu hóa học [6, 7]. Tuy nhiên, các nghiên cứu theo hướng này đang còn ít, đặc biệt đối với ACV.

Aloe vera (A.vera), ngoài các tiềm năng đã được công nhận từ lâu như chống viêm, chống oxy hóa, làm lành vết thương [8],... còn có khả năng cải thiện tính thấm của dược chất. Cụ thể, gel A.vera có khả năng cải thiện tính thấm qua da *ex vivo* của quinine, oxybutynin, colchicin, ketoprofen,... [9, 10]. Do đó, trong nghiên cứu này, gel A.vera lần đầu tiên được nghiên cứu để đánh giá khả năng cải thiện tính thấm qua da của ACV với 2 mục tiêu sau:

1. Bào chế được gel A.vera chứa ACV.
2. Đánh giá được một số đặc tính lý hóa và khả năng cải thiện tính thấm của gel A.vera chứa ACV bào chế được.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

- ACV được mua của Công ty Zhejiang Zhebei Pharmaceutical Co. (Trung Quốc, hàm lượng 99,5%), HPMC K100M, bột A.vera (Công ty cổ phần 3C Pharma, TCCS) và các tá dược khác đạt tiêu chuẩn phân tích. Chế phẩm thương mại chứa ACV là Medskin Clovir với Acyclovir 5% (Công ty CP Dược Hậu Giang).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Bào chế gel A.vera chứa ACV

* Khảo sát nồng độ tá dược tạo gel:

- Phối hợp ACV (5%, w/w) vào dung dịch gel A.vera, khuấy trộn đều bằng thiết bị khuấy từ. Sau đó, thêm từ từ tá dược tạo gel HPMC K100M (HPMC) vào hỗn hợp trên, khuấy trộn đều và ngâm trương nở qua đêm. Nồng độ tá dược tạo gel được khảo sát từ 0,5% đến 2% (w/w).

* Khảo sát nồng độ gel A.vera

- Tiến hành các giai đoạn bào chế tương tự như phần khảo sát nồng độ tá dược tạo gel. Trong đó, khảo sát nồng độ gel A.vera nằm trong khoảng 1,5%-4,5% (w/w).

* Hoàn thiện công thức:

- Để hoàn thiện công thức, chất giữ ẩm (5% glycerin) và chất bảo quản (nipagin, nipasol với nồng độ tương ứng lần lượt là 0,18% và 0,02%) được thêm vào công thức giải phóng tối ưu.

2.2.2. Đánh giá một số chỉ tiêu chất lượng của gel A.vera chứa ACV

- Tính chất: quan sát bằng cảm quan màu sắc, thể chất, độ đồng nhất của gel.

- pH: Lấy khoảng 1 g gel phân tán trong 10 ml nước. Xác định pH hỗn dịch thu được. pH đạt yêu cầu khi nằm trong khoảng 4,1 - 5,8 (pH sinh lý của da) [11].

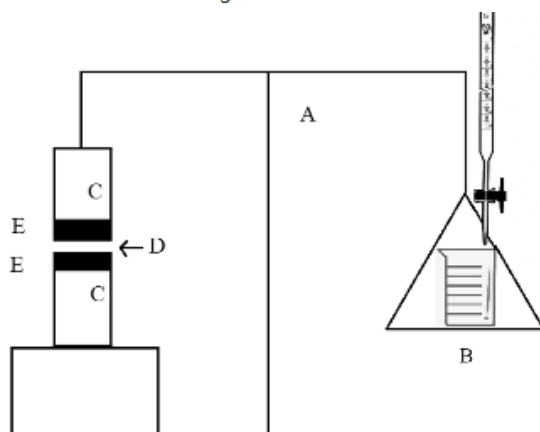
- Định lượng:

Bằng phương pháp quang phổ UV-Vis.

Xây dựng đường chuẩn: chuẩn bị dãy nồng độ 1 - 25 µg/ml trong môi trường đệm muối phosphat pH 7,4 (PBS 7,4). Xác định độ hấp thụ ở bước sóng $\lambda = 252$ nm. Từ đó, phương trình thể hiện mối tương quan giữa độ hấp thụ và nồng độ của ACV được xác định.

- Khả năng bám dính: Cho 0,1 g gel lên miếng da tai lợn (diện tích tiếp xúc $S = 3,8 \text{ cm}^2$) nằm ở vial phía dưới, sau đó ép 2 vial lại với nhau, dùng quả cân 50g đặt lên trong 5 phút. Sau đó cho nước trong buret nhỏ từ từ xuống lọ chứa ở phía đầu cân bên kia với tốc độ khoảng 10 ml/phút đến khi 2 vial tách nhau ra (Hình 1). Xác định thể tích nước V đã nhỏ xuống (ml, chuyển đổi qua khối lượng m (g)). Lực kết dính niêm mạc của gel được tính theo công thức sau [12]:

$$F = \frac{980 \times m}{S} \text{ (dyne/cm}^2\text{)}$$



Hình 1. Hình ảnh mô tả dụng cụ đánh giá khả năng bám dính của gel (A: trục cân; B: lọ chứa nước; C: các vial; D: vị trí đặt gel thử nghiệm; E: vị trí bố trí miếng da tai lợn) [12]

2.2.3. Đánh giá khả năng cải thiện tính thấm của gel A.vera chứa ACV

Đánh giá khả năng giải phóng dược chất qua màng cellulose acetat (CA 0,45 µm, đối với thử nghiệm *in vitro*) hay màng da tai lợn (đối với thử nghiệm *ex vivo*: da lợn được lấy trong vòng 2 giờ sau khi mổ, cạo lông, loại bỏ lớp mỡ dưới da, sao cho độ dày da khoảng 1mm, rồi rửa bằng dung dịch NaCl 0,9%, bảo quản da ở nhiệt độ ngăn đá của tủ lạnh

(-18°C), da có thể được sử dụng trong vòng 2 tuần) của gel bào chế bằng thiết bị Hanson Research với môi trường khuếch tán là đệm muối phosphat pH 7,4 (PBS 7,4), thể tích tế bào Franz: V = 7 ml, nhiệt độ $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$, diện tích bề mặt khuếch tán: S = 1,76 cm², tốc độ khuấy: v = 600 vòng/phút, lượng mẫu đem thử: 0,3 g [1]. Tiến hành lấy mẫu trong 6 giờ bằng cách hút 1 ml mẫu môi trường giải phóng và bổ sung một thể tích môi trường mới tương ứng. Định lượng hàm lượng ACV giải phóng bằng phương pháp quang phổ UV-Vis.

Phân tích các thông số thẩm thấu qua da

- Xác định hàm lượng ACV giải phóng trên một đơn vị diện tích màng CA/da tai lợn:

$$Q_t = \frac{M_{gp}}{A}$$

Trong đó: Q_t là hàm lượng ACV giải phóng qua 1 đơn vị diện tích màng CA/da tai lợn (μg/cm²); M_{gp} (μg) là lượng ACV giải phóng theo từng thời điểm; A là diện tích màng CA/da tai lợn thử giải phóng (cm²).

- Lượng ACV tích lũy theo thời gian là được sử dụng để tính toán giá trị thông lượng (Jss). Thông

số này có thể được xác định bằng thực nghiệm từ phương trình sau [13, 14]:

$$J_{ss} = \frac{(dm/dt)}{A}$$

Trong đó J_{ss} là lượng ACV thẩm qua màng CA/da tai lợn (μg.cm⁻².h⁻¹), dm (μg) là lượng thuốc tích lũy thẩm theo thời gian dt (h), A (cm²) là diện tích màng CA/da tai lợn thử giải phóng.

- Tỷ lệ tăng cường (ER) đã được sử dụng để đánh giá hiệu quả gel A. vera đối với sự thẩm thấu ACV và được tính theo phương trình sau:

ER = Tốc độ thẩm thấu với sự có mặt của gel A. vera/Tốc độ thẩm thấu mà không có A. vera [13].

Mỗi phân tích được lặp lại 3 lần (n = 3).

3. KẾT QUẢ

3.1. Bào chế gel A.vera chứa ACV

3.1.1. Khảo sát nồng độ HPMC:

Mục đích của khảo sát là xác định nồng độ HPMC phù hợp để phối gel và thử khả năng tăng thẩm của A.vera. Nồng độ HPMC khảo sát từ 0,5% - 2,0% (w/w). Kết quả thu được ở bảng 1.

Bảng 1. Tính chất của gel A.vera chứa ACV với tỉ lệ HPMC khác nhau

ACV (%)	5	5	5
A.vera (%)	1,5	1,5	1,5
HPMC (%)	0,5	1	2
Nước cất vừa đủ (%)	100	100	100
Tính chất	Gel màu vàng nhạt, chảy lỏng	Gel màu vàng nhạt, hơi lỏng	Gel màu vàng nhạt, đặc, đồng nhất

Nhận xét: Công thức có nồng độ HPMC 2,0% cho gel đặc, đồng nhất và phù hợp với dạng dùng ngoài da. Vì vậy, nồng độ HPMC 2,0% được lựa chọn để tiếp tục nghiên cứu.

3.1.2. Khảo sát nồng độ gel A. vera

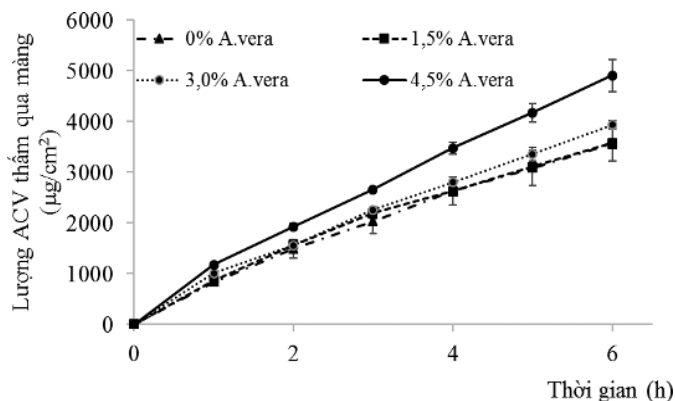
Nồng độ gel A.vera được lựa chọn để thử nghiệm nằm trong khoảng 1,5% - 4,5% (w/w). Kết quả thu được ở bảng 2.

Bảng 2. Tính chất của gel A.vera chứa ACV với tỉ lệ A.vera khác nhau

ACV (%)	5	5	5	5
A.vera (%)	0	1,5	3	4,5
HPMC (%)	2	2	2	2
Nước cất vừa đủ (%)	100	100	100	100
Tính chất	Gel màu vàng nhạt, đặc, đồng nhất	Gel màu vàng nhạt, đặc, đồng nhất	Gel màu vàng nhạt, đặc, đồng nhất	Gel màu vàng nhạt, đặc, đồng nhất

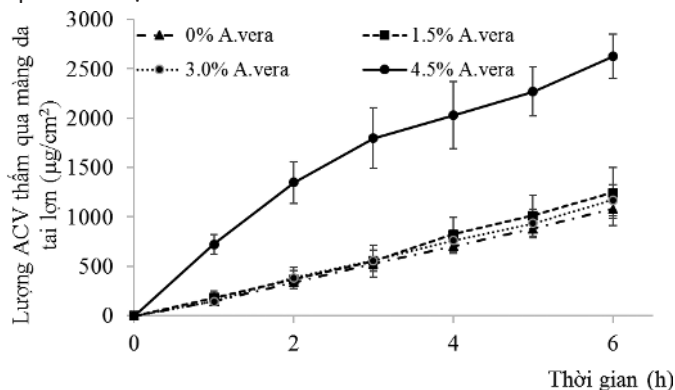
Nhận xét: Tất cả các công thức gel A.vera chứa ACV với tỉ lệ A.vera khác nhau đều đạt yêu cầu về tính chất.

Do đó, tiếp tục đánh giá khả năng giải phóng dược chất *in vitro* qua màng CA của các công thức này, kết quả thu được ở hình 2 như sau:



Hình 2. Đồ thị biểu thị lượng ACV thẩm qua màng CA của các công thức gel chứa ACV với nồng độ A.vera khác nhau

Tiếp tục đánh giá khả năng giải phóng dược chất *ex vivo* qua màng da tai lợn của các công thức với nồng độ A.vera khác nhau, kết quả thu được ở hình 3 như sau:



Hình 3. Đồ thị biểu thị lượng ACV thẩm qua màng da tai lợn của các công thức gel chứa ACV với nồng độ A.vera khác nhau

Các giá trị tốc độ thẩm J và mức độ tăng thẩm đối với từng thử nghiệm được xác định và thu được kết quả như ở bảng 3:

Bảng 3. Kết quả tốc độ thẩm qua màng CA và màng da tai lợn của các công thức gel chứa ACV với nồng độ A.vera khác nhau

Thông số	0% A.vera	1,5% A.vera	3,0% A.vera	4,5% A.vera
Tốc độ thẩm qua màng CA ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$)	543,26 $\pm$ 55,61	531,37 $\pm$ 2,84	586,99 $\pm$ 13,09	748,93 $\pm$ 75,35*
Mức độ tăng thẩm qua màng CA		0,98	1,08	1,38*
Tốc độ thẩm qua màng da tai lợn ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$)	185,59 $\pm$ 24,13	215,05 $\pm$ 42,26	199,63 $\pm$ 20,79	357,60 $\pm$ 23,23*
Mức độ tăng thẩm qua màng da tai lợn		1,16	1,08	1,93*

(Ghi chú: *: Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với các công thức khác với $p < 0,05$, ANOVA, Tukey post-hoc test)

Nhận xét: Mức độ tăng thẩm qua màng CA và màng da tai lợn được thể hiện như sau: 4,5% A.vera > 3,0% A.vera $\approx$ 1,5% A.vera $\approx$ 0% A.vera. Trong các công thức trên, công thức gel chứa ACV với nồng độ A.vera 4,5% có

mức độ tăng thẩm cao nhất và có giá trị bằng 1,93 lần so với công thức không chứa gel A.vera nên nồng độ A.vera 4,5% đã được lựa chọn.

3.2. Đánh giá một số đặc tính lý hóa và khả năng cải thiện tính thẩm của gel A.vera chứa ACV

3.2.1. Đánh giá một số đặc tính lý hóa của gel A.vera chứa ACV

Tiến hành hoàn chỉnh công thức, kết quả thu được công thức có thành phần và một số đặc tính lý hóa như bảng 4:

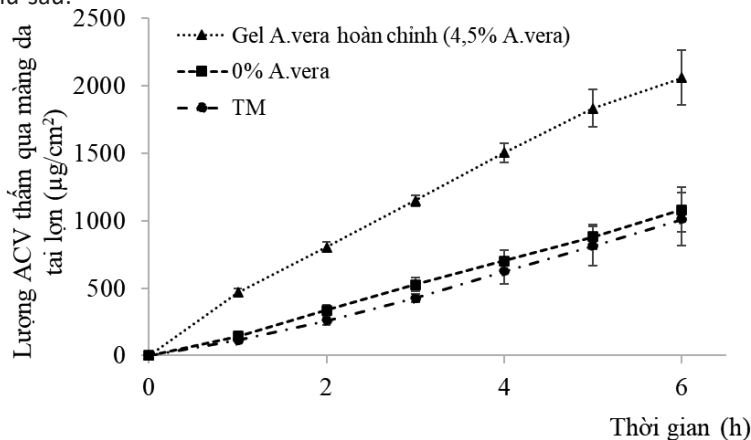
Bảng 4. Đặc tính lý hóa của công thức gel A.vera hoàn chỉnh chứa ACV

Thành phần công thức	
ACV (%)	5
A.vera (%)	4,5
Glycerin (%)	5
HPMC (%)	2
Nipagin (%)	0,18
Nipasol (%)	0,02
Nước cất vừa đủ (%)	100
Đặc tính lý hóa	
Tính chất	Gel màu vàng nhạt, đặc, đồng nhất
pH	$5,45 \pm 0,03$
Hàm lượng	$103,50 \pm 1,17\%$
Khả năng bám dính	$1951,40 \pm 298,91 \text{ dyne/cm}^2$
Hình ảnh	

Nhận xét: Gel A.vera hoàn chỉnh chứa ACV có đặc tính như tính chất, pH, hàm lượng và khả năng bám dính phù hợp với công thức gel định hướng sử dụng dùng ngoài để bôi da.

3.2.2. Đánh giá khả năng cải thiện tính thẩm của gel A.vera chứa ACV

- Đánh giá khả năng cải thiện tính thẩm *ex vivo* của công thức gel A.vera hoàn chỉnh chứa ACV thu được kết quả ở hình 4 như sau:



Hình 4. Đồ thị biểu thị lượng ACV thẩm qua màng da tai lợn của công thức gel A.vera hoàn chỉnh chứa ACV 5%

Nhận xét: Trong đánh giá khả năng cải thiện tính thẩm của ACV qua màng da tai lợn *ex vivo*, công thức

gel A.vera hoàn chỉnh chứa ACV 5% có khả năng giải phóng tốt hơn, với mức độ tăng thấm so với công thức gel A.vera 0% là 1,76 lần, và mức độ tăng thấm so với công thức gel thương mại là 1,86 lần.

4. BÀN LUẬN

HPMC được lựa chọn để khảo sát do nhanh trương nở và quy trình bào chế gel chứa HPMC thuận tiện. Để khảo sát nồng độ tá dược tạo gel HPMC phù hợp, gel A.vera với nồng độ 1,5% đã được lựa chọn. Qua kết quả khảo sát, HPMC với nồng độ 2% cho gel màu vàng nhạt, đặc và đồng nhất nên được lựa chọn để phối gel. Tiếp theo, việc khảo sát nồng độ gel A.vera với khoảng nồng độ 1,5 - 4,5% đã được tiến hành thông qua thử nghiệm đánh giá tính thấm qua màng *in vitro* và *ex vivo*.

Kết quả thu được chỉ ra công thức gel A.vera 4,5% có khả năng giải phóng dược chất *in vitro* qua màng CA với tốc độ thấm J là $748,93 \pm 75,35$ ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$) với mức độ tăng thấm so với gel A.vera 0% là 1,38 lần và khả năng giải phóng dược chất *ex vivo* qua màng da tai lợn tối ưu với tốc độ thấm J là $357,60 \pm 23,23$ ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$) với mức độ tăng thấm so với gel A.vera 0% là 1,93 lần. Khả năng thấm của dược chất qua màng CA với cấu trúc nhiều lỗ xốp cao hơn qua màng da tai lợn (với các đặc điểm về mô học gần với da người) cũng tương tự như nghiên cứu trước đây [15].

Hiện nay, trên thế giới, nhiều nghiên cứu đánh giá khả năng cải thiện tính thấm của A. vera đối với dược chất đã được thực hiện, như nghiên cứu của Cole và cộng sự (2007) [16], nghiên cứu của Lizelle T Fox (2015) [17]. Từ đó, nhiều cơ chế giải thích cho khả năng cải thiện tính thấm của A. vera đã được đề xuất, bao gồm:

- A. vera có khả năng hydrat hóa lớp sừng, là

hàng rào ngăn chặn dược chất hấp thu qua da [18]. Một khi lớp sừng được hydrat hóa, khả năng đưa thuốc qua da sẽ dễ dàng hơn [19].

- A. vera cũng chứa lignin, là một chất giúp các thành phần khác trong A. vera thấm qua da [19, 20].

Công thức gel A.vera 4,5% tối ưu được bổ sung thêm chất giữ ẩm glycerin 5% (vì gel thường có hiện tượng khô bề mặt) và chất bảo quản (do có chứa A.vera nên dễ bị vi sinh vật xâm nhập và dễ bị oxy hóa làm hỏng gel). Gel thành phẩm có màu vàng nhạt, đặc, đồng nhất, pH $5,45 \pm 0,03$, hàm lượng $103,5 \pm 1,17\%$, khả năng bám dính là $1951,40 \pm 298,91$ dyne/ cm^2 . Công thức hoàn thiện cũng được đánh giá khả năng giải phóng qua màng *ex vivo* so với công thức kem thương mại chứa ACV 5%. Kết quả thu được cho thấy công thức kem thương mại với tốc độ thấm J là $180,99 \pm 42,69$ ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$), trong khi gel A.vera hoàn chỉnh chứa ACV 5% có tốc độ thấm là $325,68 \pm 42,05$ ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$) ($p < 0,05$, khác biệt có ý nghĩa thống kê). Kết quả của đề tài này cho thấy hướng đi triển vọng của việc ứng dụng gel A.vera vào các thuốc tân dược, đặc biệt là các thuốc dùng ngoài da nhằm tăng tính thấm và nâng cao sinh khả dụng cho các hợp chất.

5. KẾT LUẬN

Đã bào chế gel A.vera chứa ACV hoàn chỉnh với công thức tốt nhất gồm ACV 5%, A.vera 4,5%, glycerin 5% và HPMC 2%, chất bảo quản tỉ lệ phù hợp. Công thức gel A.vera hoàn chỉnh với 4,5% A.vera có các đặc tính lý hóa phù hợp và có khả năng cải thiện tính thấm so với công thức gel chứa ACV không sử dụng A.vera. Việc sử dụng A.vera đã giúp tăng cường tính thấm của ACV và có nhiều tiềm năng trong các công thức định hướng dùng ngoài da nhằm tăng cường tính thấm đối với các dược chất khác.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Calderón L, Harris R, Cordoba-Diaz M, Elorza M, Elorza B, Lenoir J, et al. Nano and microparticulate chitosan-based systems for antiviral topical delivery. *Eur J Pharm Sci*. 2013;48(1-2):216-22.
2. Cortesi R, Esposito E. Acyclovir delivery systems. *Expert opinion on drug delivery*. 2008;5(11):1217-30.
3. Lembo D, Cavalli R. Nanoparticulate Delivery Systems for Antiviral Drugs. *Antiviral Chemistry and Chemotherapy*. 2010;21(2):53-70.
4. Hassan H, Bello RO, Adam SK, Alias E, Meor Mohd Affandi MMR, Shamsuddin AF, et al. Acyclovir-Loaded Solid Lipid Nanoparticles: Optimization, Characterization and Evaluation of Its Pharmacokinetic Profile. *Nanomaterials*.

2020;10(9):1785.

5. Kaur A, Sharma G, Gupta V, Ratho RK, Katore OP. Enhanced acyclovir delivery using w/o type microemulsion: preclinical assessment of antiviral activity using murine model of zosteriform cutaneous HSV-1 infection. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*. 2018;46(2):346-54.
6. Chen Y, Wang M, Fang L. Biomaterials as novel penetration enhancers for transdermal and dermal drug delivery systems. *Drug Deliv*. 2013;20(5):199-209.
7. Fox LT, Gerber M, Plessis JD, Hamman JH. Transdermal Drug Delivery Enhancement by Compounds of Natural Origin. *Molecules*. 2011;16(12):10507-40.
8. Hamman JH. Composition and applications of Aloe

vera leaf gel. *Molecules*. 2008;13(8):1599-616.

9. Cole L, Heard C. Skin permeation enhancement potential of Aloe Vera and a proposed mechanism of action based upon size exclusion and pull effect. *Int J Pharm*. 2007;333(1-2):10-6.

10. Fox LT, Gerber M, du Preez JL, du Plessis J, Hamman JH. Skin permeation enhancement effects of the gel and whole-leaf materials of Aloe vera, Aloe marlothii and Aloe ferox. *The Journal of pharmacy and pharmacology*. 2015;67(1):96-106.

11. Proksch E. pH in nature, humans and skin. *The Journal of dermatology*. 2018;45(9):1044-52.

12. Bansal K, Rawat MK, Jain A, Rajput A, Chaturvedi TP, Singh S. Development of satranidazole mucoadhesive gel for the treatment of periodontitis. *AAPS PharmSciTech*. 2009;10(3):716-23.

13. Abruzzo A, Armenise N, Bigucci F, Cerchiara T, Gösser MB, Samori C, et al. Surfactants from itaconic acid: Toxicity to HaCaT keratinocytes in vitro, micellar solubilization, and skin permeation enhancement of hydrocortisone. *International journal of pharmaceutics*. 2017;524(1-2):9-15.

14. Liu C-H, Chang F-Y, Hung D-K. Terpene microemulsions for transdermal curcumin delivery: effects of terpenes and cosurfactants. *Colloids and Surfaces B*:

Biointerfaces. 2011;82(1):63-70.

15. Haq A, Dorrani M, Goodyear B, Joshi V, Michniak-Kohn B. Membrane properties for permeability testing: Skin versus synthetic membranes. *International journal of pharmaceutics*. 2018;539(1-2):58-64.

16. Cole L, Heard C. Skin permeation enhancement potential of Aloe Vera and a proposed mechanism of action based upon size exclusion and pull effect. *International journal of pharmaceutics*. 2007;333(1-2):10-6.

17. Fox LT, Gerber M, L du Preez J, du Plessis J, Hamman JH. Skin permeation enhancement effects of the gel and whole-leaf materials of Aloe vera, Aloe marlothii and Aloe ferox. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2015;67(1):96-106.

18. Hamman JH. Composition and applications of Aloe vera leaf gel. *Molecules*. 2008;13(8):1599-616.

19. Alkilani AZ, McCrudden MT, Donnelly RF. Transdermal drug delivery: innovative pharmaceutical developments based on disruption of the barrier properties of the stratum corneum. *Pharmaceutics*. 2015;7(4):438-70.

20. Hęś M, Dziedzic K, Górecka D, Jędrusek-Golińska A, Gujska E. Aloe vera (L.) Webb.: natural sources of antioxidants—a review. *Plant Foods for Human Nutrition*. 2019;74(3):255-65.