

## Encapsulation of Curcumin and Diclofenac Mixture with Sodium Alginate and Chitosan and Evaluation of the Encapsulation Efficiency

Dr. Muhammad Maarouf\*  
Dr. Tareq Arraj\*\*  
Dr. Wissam Zam\*\*\*  
Riham Ahmad Moalla\*\*\*\*

(Received 25 / 6 / 2024. Accepted 29 / 7 / 2024)

### □ ABSTRACT □

Curcumin synergizes with diclofenac to achieve a dose-related anti-inflammatory effect. Curcumin has an activity similar to that of diclofenac, allowing for reduction in side effects. Curcumin inhibits enzymes in the digestive system that destroy diclofenac, which increases the bioavailability of diclofenac.

micro capsules of a mixture of curcumin and diclofenac were prepared using sodium alginate with concentrations (2.5- 3- 3.5- 4- 4.5- 5) %, added to a calcium chloride solution (CaCl<sub>2</sub>) 2.5 %. The effect of CaCl<sub>2</sub> concentrations on the encapsulation efficiency was studied on the range (2- 2.5- 3- 3.5- 4- 4.5- 5) % using sodium alginate 3.5 %.

Micro capsules with a doubled layer were prepared from sodium alginate 3.5 % (prepared in CaCl<sub>2</sub> solution 2.5 %) and chitosan solution (0.25- 0.5- 0.75- 1- 1.5- 2) %.

The encapsulation efficiency reached 89.5% and 98.3% for curcumin and sodium diclofenac respectively, using sodium alginate 3.5% and CaCl<sub>2</sub> (2.5%).

For chitosan with sodium alginate (0.5 - 3.5) %, this encapsulation efficiency was 91.4% and 99.1% for curcumin and sodium diclofenac respectively. The result of this study confirm the possibility of adopting this method in encapsulation of a mixture of curcumin and diclofenac because it is fast, accurate, and has very good encapsulation efficiency.

**Keywords:** curcumin, diclofenac Sodium, micro capsules, sodium alginate. Chitosan.

**Copyright**



:Tishreen University journal-Syria, The authors retain the copyright under a CC BY-NC-SA 04

\* Professor - Department of Chemistry - Faculty of Science - Tishreen University - Latakia - Syria.

\*\*Assistant Professor - Department of Environmental Chemistry - Higher Institute for Environmental Research - Tishreen University - Latakia - Syria.

\*\*\* Assistant Professor - Department of Analytical and Food Chemistry - Faculty of Pharmacy - University of Tartous - Tartous - Syria.

\*\*\*\* PhD student - Department of Chemistry - Faculty of Science - Tishreen University - Latakia - Syria. rihamahmadmoalla@gmail.com

## تحضير محافظ دقيقة لمزيج الكركمين والديكلوفيناك باستخدام ألجينات الصوديوم والكيروزان وتقييم نسبة التمحفظ

د. محمد معروف\*

د. طارق عراج\*\*

د. وسام زم\*\*\*

رهام أحمد معلا\*\*\*\*

(تاريخ الإيداع 2024 / 6 / 25. قُبِلَ للنشر في 2024 / 7 / 29)

### □ ملخص □

يقوم الكركمين بالتأزر مع الديكلوفيناك بالوصول إلى تأثير مضاد للالتهاب مرتبط بالجرعة، والكركمين له فعالية مشابهة لفعالية الديكلوفيناك مما يقلل الآثار الجانبية له، يثبط الكركمين الأنزيمات في الجهاز الهضمي التي تخرب الديكلوفيناك مما يزيد من التوافر الحيوي للديكلوفيناك، حضرت محافظ دقيقة لمزيج الكركمين والديكلوفيناك باستخدام ألجينات الصوديوم بتركيز

(2.5 - 3 - 3.5 - 4 - 4.5 - 5) % أضيفت إلى محلول كلوريد الكالسيوم  $CaCl_2$  2.5 %، درس تأثير تغير تركيز  $CaCl_2$  (2 - 2.5 - 3 - 3.5 - 4 - 4.5 - 5) % على فعالية التمحفظ بثبات تركيز ألجينات الصوديوم 3.5 % . حضرت محافظ دقيقة ذات الطبقة المضاعفة من ألجينات الصوديوم 3.5 % (المحضرة بمحلول  $CaCl_2$  2.5 %) مع محلول الكيروزان ذي التراكيز (0.25 - 0.5 - 0.75 - 1 - 1.5 - 2) %.

بلغت نسبة التمحفظ عند استخدام ألجينات الصوديوم 3.5 % مع محلول  $CaCl_2$  2.5 % لكل من الكركمين والديكلوفيناك 89.5 % و 98.3 % على الترتيب، أما الكيروزان مع ألجينات الصوديوم بتركيز (0.5، 3.5) % فكانت نسبة تمحفظ الكركمين 91.4 %، والديكلوفيناك 99.1 % . حيث تؤكد نتائج البحث على إمكانية اعتماد هذه الطريقة في تمحفظ مزيج الكركمين والديكلوفيناك لأنها سريعة ودقيقة وذات فعالية تمحفظ جيدة جداً.

الكلمات المفتاحية: الكركمين - الديكلوفيناك - المحافظ الدقيقة - ألجينات الصوديوم - الكيروزان.

حقوق النشر : مجلة جامعة تشرين- سورية، يحتفظ المؤلفون بحقوق النشر بموجب الترخيص



CC BY-NC-SA 04

\* أستاذ - قسم الكيمياء - كلية العلوم - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية.

\*\* مدرس - قسم الكيمياء البيئية - المعهد العالي لبحوث البيئة - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية.

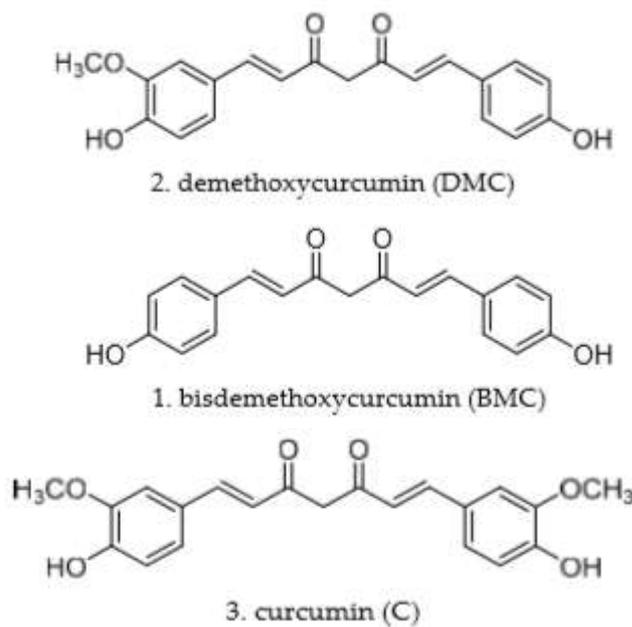
\*\*\* مدرس - قسم الكيمياء التحليلية والغذائية - كلية الصيدلة - جامعة طرطوس - سورية.

\*\*\*\* طالبة دكتوراه - قسم الكيمياء - كلية العلوم - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية. rihamahmadmoalla@gmail.com

## مقدمة:

يعد الكركم (Turmeric) أحد النباتات المعمرة (Anjani *et al.*, 2022)، تنتمي هذه العُشبة لفصيلة الزنجبيلات (Opustilová *et al.*, 2023)، وتعد مادة الكركمين المادة الفعالة والأهم في الكركم وهي المسؤولة عن ظهوره باللون الأصفر (Chao *et al.*, 2018).

يتوفر الكركمين (CUR) تجارياً وهو خليط من الكركمينويدات (Curcuminoids)، وهي الكركمين 77% (C) (Curcumin)، و دي ميثوكسي كركمين 18% (DMC) (De Methoxy Curcumin)، و بيس دي ميثوكسي كركمين 5% (BDMC) (Bis De Methoxy Curcumin) (Anjani *et al.*, 2022). يمثل الشكل (1) البنية الكيميائية لمركب الكركمين بمكوناته الثلاثة (BDMC, DMC, C).



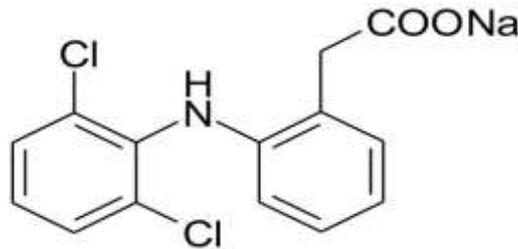
الشكل(1): البنية الكيميائية لمركب الكركمين بمكوناته الثلاثة

تمت دراسة الكركمين على نطاق واسع لخصائصه المضادة للالتهابات (Mallya *et al.*, 2024)، ومضادات الأكسدة (Haq *et al.*, 2023)، ومضادات الزهايمر، ومضادات الميكروبات، ومضادات السرطان، سكر الدم، التئام الجروح، زيادة المناعة (Fu *et al.*, 2021)

تعد مركبات الكركمين منخفضة الذوبان عملياً في المحاليل المائية (Suliman *et al.*, 2024)، وهي تذوب في الميثانول والإيثانول وثنائي ميثيل سلفوكسيد والأسيتون والاسيتونتريل (Chaudhary *et al.*, 2012).

ديكلوفيناك الصوديوم (Sodium Diclofenac) (DIC) هو أحد مضادات الالتهاب غير الستيروئيدية (Pena *et al.*, 2023) الموصوفة لتأثيراتها المضادة للالتهابات (Yang *et al.*, 2023) وخافضات الحرارة (Ravi *et al.*, 2024)، بالإضافة إلى أنه أثبتت فعاليته في علاج مجموعة متنوعة من الآلام الحادة والمزمنة (Alkassab *et al.*, 2023). وفعال أيضاً في حالات (آلام الروماتيزم - التهاب المفاصل - التهاب العضلات والأوتار - الصداع بأنواعه - ألم الأسنان - الإصابات الرياضية - عسر الطمث) (Ashour *et al.*, 2024).

يوضح الشكل (2) البنية الكيميائية لمركب ديكلوروفيناك الصوديوم (2)-[2,6-دي كلورو أنيلينو] فينيل أسيتات الصوديوم Sodium;[(2,6-dichloroanilino)phenyl] acetate (Nalini *et al.*, 2020).  
ديكلوروفيناك الصوديوم قابل للذوبان بشكل طفيف في الماء والأسيتون، قابل للذوبان بحرية في الإيثانول والميتانول (Alkassab *et al.*, 2023).



الشكل (2): البنية الكيميائية لمركب ديكلوروفيناك

يُسمى تغليف سائل أو صلب أو غاز داخل مادة أخرى لتكوين جزيئات بالتمحفظ، وذلك اعتماداً على الطريقة والمواد المستخدمة، يمكن أن يختلف حجم وشكل الجسيمات، غالباً ما يستخدم مصطلح "كبسولات" عندما تكون المادة المغلفة (القلب، العامل النشط، الحشو، الطور الداخلي، النواة أو الحمولة) محاطة بغشاء من المادة (المغلف، الناقل، الغلاف، الغشاء أو القشرة أو الجدار)، في حين يستخدم مصطلح "الكرة" أو "الجسيم" فقط عندما ينتشر اللب أو يذوب في المادة الناقلة (Xu *et al.*, 2024).

تسمى الجسيمات أو الكبسولات التي يتراوح حجمها (بين 1-5000 ميكرومتر) الجسيمات الدقيقة أو كبسولات دقيقة، أما (الأقل من 1 ميكرومتر) وعادة ما يتم تعريفها على أنها كبسولات نانوية أو الجسيمات النانوية، أما (ما فوق 5000 ميكرومتر) تسمى الجسيمات كبسولات كبيرة أو مجرد جزيئات مغلفة (Marques and Segundo, 2024)، عادة ما تكون الكبسولات الدقيقة كروية، ولكن يمكن أن يكون لها أيضاً شكل غير منتظم.

تعد تقنية التهلم الشاردي Ionic Gelation من أهم تقنيات التمحفظ الدقيق، يستخدم في هذه التقنية محلول لمتماثر وحيد في التغليف كألجينات الصوديوم مثلاً ويتم تحريض انفصال الأطوار باستعمال الشوارد المعدنية ثنائية التكافؤ مثل الكالسيوم أو الباريوم أو المغنيزيوم (Loquercio *et al.*, 2014).

اتسع اليوم نطاق تطبيقات البوليمرات الحيوية مع الطلب على مواد مبتكرة وصديقة للبيئة توفر خصائص محسنة. يعد الكيتين المركب الأصلي للكيوتوزان وثاني البوليمر الحيوي الأكثر وفرة في الطبيعة بعد السليلوز، هو عديد السكاريد الخطي يتكون من وحدات poly-β-[1,4]-N-acetyl-D-glucosamine (Kou *et al.*, 2022). يمكن الحصول على هذا البوليمر الأخضر من مجموعة متنوعة من المصادر وخاصة الهياكل الخارجية للقشريات لأنه المكون الأساسي لها (Jiménez-Gómez and Cecilia., 2020).

يتميز الكيتوزان ببنائه الكيميائي الحراري العالي وعدم ذوبانه العالي في المحاليل المائية ومعظم المذيبات العضوية (Khajavian *et al.*, 2022)، بالمقابل يكون الكيتوزان ذوياً في المحاليل الحمضية الممددة بسبب برتنة زمرة الأمين، ومع ذلك، يتم تعريف الكيتوزان على أنه الشكل N-deacetylated من الكيتين الذي تم الحصول عليه عن طريق عملية نزع الأسيتيل الكيميائية أو الأنزيمية، ويوجد أيضاً بشكل طبيعي في جدران الخلايا لبعض الفطريات. وهو عبارة عن بوليمر مشترك خطي يتكون من وحدات (محببة للماء متكررة) وحدات D - الجلوكوزامين (D-glucosamine units) (وحدات كارهة للماء المتبقية) وحدات N-اسيتيل - D - الجلوكوزامين (N-acetyl-D-glucosamine).

units (Yarnpakdee *et al.*, 2022). تزداد قابلية الذوبان بشكل عام مع زيادة درجة نزع الأسيتيل وانخفاض الوزن الجزيئي (Mukhtar *et al.*, 2021). نظراً لطبيعته الكاتيونية، يتمتع الكيروزان بأنشطة بيولوجية جيدة مثل نشاط مثبت للجراثيم ومضادات الأكسدة ومضاد للأورام ومضاد للالتهابات ومضاد للفطريات (Aranaz *et al.*, 2021). يُظهر هذا البوليمر الطبيعي النشاط بيولوجياً توافقاً حيوياً عالياً، وقابلية تحلل حيوي ممتازة، ووظائف استثنائية، وفعالية من حيث التكلفة، وغير سمية، مما يجعله مفيداً وقوياً في التطبيقات الهندسية المختلفة (Sorasitthiyankarn *et al.*, 2024). توصف ألجينات الصوديوم Sodium Alginate (SA) بأنها بوليمير طبيعي المنشأ يشكل هلاماً (جلاً) في شروط آمنة وسهلة، لذلك تستخدم في كبسلة العديد من المواد مثل الخلايا، والأنزيمات، والدهن، وتعتبر أهم نماذج أنظمة الكبسلة ذات المنشأ الهيدروجلي، استعملت الألجينات لأول مرة في ميدان الكبسلة في السبعينات، ومن ثم تم تطوير طرائق عديدة لإنتاج حبيبات الهيدروجل من الألجينات وبأحجام وبنى وأشكال مختلفة (Hasan *et al.*, 2023). هذا وتشكل البوليميرات المكونة للجل والتي مصدرها طبيعي مجموعة مميزة من مجموعات مواد الكبسلة الحيوية بسبب قابليتها للتجدد، والتفكك الحيوي وتوافقيتها الحيوية وعدم سميتها. ومن بين هذه المجموعة برزت الألجينات، لأنها تشكل مواد هيدروجل مع أيونات ثنائية التكافؤ  $Ca^{2+}$  مثلاً وباستخدام أدوات بسيطة (بيشر ومحقن طبي). وهذه المواد لها خصائص فيزيائية رائعة. ثباتها الحراري الكبير، وتشكيل الجل بشكل سريع، وإمكانية التحكم بخصائصها الميكانيكية، وتحرر المادة الفعالة، وقابلية التحلل الحيوي (Sadeghi *et al.*, 2024)

تتكون الألجينات من السكاكر المتعددة الأنويونية وتوجد كمكون بنيوي في الطحالب الألبيا algae البحرية بنية اللون (Phaeophyceae) وتشكل 40% من المحتوى الجاف له، وتنتج الألجينات التجارية من طحالب الألبيا البنية، فهي متوفرة في الطبيعة، كما أن بعض بكتريا الأرض مثل *Azotobacter vinelandii* وأصناف متعددة من *Pseudomonas* تنتج مادة بوليميرية خارجة الخلية extracellular مشابهة للألجينات التي تنتجها الطحالب البنية. إنَّ الألجينات بوليمير خطي مشترك ثنائي مؤلف من  $\alpha$ -D-glucuronic acid (G) و  $\beta$ -D-mannuronic acid (M) و  $\alpha$ -L-galacturonic acid المرتبطين بروابط غليكوزيدية 4,1. يمكن أن يوصف بأنه بوليمير قالي block polymer يحوي وحدات كتل بوليميرية متشابهة من M و G ووحدات متناوبة منها (Lai *et al.*, 2024).

تم تحفظ الكركمين باستخدام أغلفة بوليميرية مختلفة مثل ألجينات الصوديوم، وألجينات الكازئين، وبولي لاكتيك، والكيروزان. وتم تحفظ الديكلوفيناك أيضاً باستخدام عدة أغلفة بوليميرية مثل ألجينات الكازئين، والكيروزان مع حمض بولي إيتانوثيك، يبين الجدول (1) الدراسات المرجعية التي تمت دراستها لتمحظ مركب الكركمين والديكلوفيناك.

جدول (1): الدراسات المرجعية السابقة التي تمت دراستها لتمحظ مركب الكركمين والديكلوفيناك

الدراسة المرجعية	المركب المدروس	الغلاف البوليميري المستخدم
(Shaikh – and Barik., 2023)	الكركمين	ألجينات الصوديوم
(Paswan <i>et al.</i> , 2024)	الكركمين	الألجينات وبولي لاكتيك
(Zamani <i>et al.</i> , 2024)	الكركمين	ألجينات الكازئين
(Asif <i>et al.</i> , 2023)	الكركمين	الكيروزان وصوديوم تري بولي فوسفات
(Asadi <i>et al.</i> , 2023)	الكركمين	الكيروزان والألجينات
(Al-Hazmi <i>et al.</i> , 2024)	الديكلوفيناك	ألجينات الكازئين
(Elsayed <i>et al.</i> , 2023)	الديكلوفيناك	الكيروزان وحمض بولي إيتانوثيك

تم في هذا البحث تحضير محافظ دقيقة لمزيج الكركمين والديكلوفيناك باستخدام ألجينات الصوديوم والكيترولان بالمشاركة مع الألجينات وتقييم نسبة التمحفظ وتحديد فعالية المحافظ بطريقة ال HPLC، يعد تمحفظ هذا المزيج ذو أهمية علمية مستقبلية في الاستخدام الدوائي الواسع والمفيد جداً، لذا كان لابد من إيجاد طريقة دقيقة وفعالة لها.

### أهمية البحث وأهدافه:

تكمن أهمية البحث في استخدام الأدوية ذات الأصل النباتي ومشاركتها مع المركبات الدوائية المصنعة ومن هنا تمت مشاركة الكركمين مع ديكلوفيناك الصوديوم، حيث يقوم الكركمين بالتآزر مع الديكلوفيناك والوصول إلى تأثير مرتبط بالجرعة، بالإضافة إلى أن الكركمين له فعالية الديكلوفيناك مما يسمح بتقليل الآثار الجانبية للديكلوفيناك، و الكركمين يثبط الأنزيمات في الجهاز الهضمي التي تخرب الديكلوفيناك مما يزيد من التوافر الحيوي للديكلوفيناك.

يهدف البحث إلى:

- تحضير محافظ دقيقة لمزيج الكركمين والديكلوفيناك باستخدام أغلفة بوليميرية محددة.
- دراسة الشروط المثلى لتشكيل المحافظ الدقيقة وتحديد نسبة التمحفظ بدقة.

### طرائق البحث ومواده:

#### 1. المواد و الأجهزة والأدوات المستخدمة وطرائق العمل

##### 1.3. المواد المستخدمة:

- مركب الكركمين (Curcumin) 94%، إنتاج شركة (Sigma – Aldrich).
- مذيبات عضوية نقاوة HPLC-Grade وهي: الأسيتونتريل (Acetonitrile, CH<sub>3</sub>CN) 99.8% إنتاج شركة (Merck-Germany).
- حمض الفسفور (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, Phosphoric Acid) نقاوة 99%، إنتاج شركة (Merck-Germany).
- حمض الخل (CH<sub>3</sub>COOH, Acetic Acid) نقاوة 99%، إنتاج شركة (Merck-Germany).
- مركب ديكلوفيناك الصوديوم 99%، إنتاج شركة (Sigma – Aldrich).
- ألجينات الصوديوم نقاوته 95% (Rajasthan, India).
- كلوريد الكالسيوم نقاوته 95% (Rajasthan, India).
- الكيتوزان نقاوته 95% (Rajasthan, India).
- فوسفات أحادية الصوديوم نقاوته 96% (Rajasthan, India).
- فوسفات ثنائية الصوديوم نقاوته 96% (Rajasthan, India).

##### 2.3. الأجهزة والأدوات المستخدمة:

- جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (High Performance Liquid Chromatography (HPLC) (إنتاج شركة Shimadzu اليابانية) الموجود في مختبر المعهد العالي لبحوث البيئة - جامعة تشرين، والمزود بمضخة ثنائية الطور (LC-20AT)، حاقن آلي (SIL-M20A)، كاشف UV-VIS مع نظام (SPD-M20A) Diod Array Detector ووحدة معالجة (CBM-20A)، عمود التحليل (C<sub>18</sub> (250×4.6m.m.5µm) (إنتاج شركة

Wissenschaftliche Gerätebau الألمانية)، حزمة برمجية (HPLC (LC Solution) (إنتاج شركة Shimadzu).

- جهاز Ultrasonic Cleaner لنزع الغازات إنتاج شركة Jeken الصينية (PS-40A).
- ميزان حساس شركة Shimadzu يزن بدقة  $\pm 0.0001$  g.
- فلاتر غشائية  $0.45\mu\text{m}$  (Milliporemembrane- filters) إنتاج شركة (Goettingen-Germany Albet).

### 3.3. طريقة العمل:

أولاً: تحضير المحاليل العيارية:

1. حضر محلول عياري أم من مادة الكركمين 15ppm، وذلك بحل 9.96mg من الكركمين في كمية مناسبة من الاسيتونتريل وأكمل الحجم حتى 50ml، أخذ 2ml من المحلول السابق وتم تمديده حتى 25ml بالأسيتونتريل.

2. محلول عياري أم من مادة ديكلوفيناك الصوديوم 5 ppm، وذلك بحل 3.154mg من ديكلوفيناك الصوديوم في كمية مناسبة من الاسيتونتريل وأكمل الحجم حتى 50ml، أخذ 2ml من المحلول السابق وتم تمديده حتى 25ml بالأسيتونتريل.

3. حضر محلول عياري أم من مزيج الكركمين والديكلوفيناك (5-15) ppm على التوالي، وذلك بحل 9.96mg من الكركمين، و 3.154mg من ديكلوفيناك الصوديوم في كمية مناسبة من الاسيتونتريل وأكمل الحجم حتى 50ml، أخذ 2ml من المحلول السابق وتم تمديده حتى 25ml بالأسيتونتريل.

ثانياً: تحضير حمض الخل (1%):

حضر محلول حمض الخل (1%) بأخذ 1.1ml حمض خل باعتبار نقاوته 99% ووضعه في بالون معايرة سعة 100ml وأكمل الحجم حتى علامة السعة بالماء المقطر.

ثالثاً: تحضير محلول موقى فوسفاتي في درجة حموضة (PH=7.4):

يحل 35.61g من فوسفات ثنائية الصوديوم في دورق حجمي سعة 1000ml، و 27.6g من فوسفات أحادية الصوديوم في الماء المقطر ويكمل الحجم حتى 1000ml.

رابعاً: تحضير محافظ أجنات الصوديوم:

أخذت عدة بياشر ووضع في كل منها 10ml من محلول الأجنات ذو التراكيز (2.5-3-3.5-4-4.5-5) %، وتم التحريك حتى انحلال كامل الأجنات بواسطة محرك مغناطيسي، وأضيف لها 10ml محلول مزيج الكركمين وديكلوفيناك الصوديوم ذو التركيز (5-15) ppm على الترتيب. وضع في بياشر أخرى 40ml من محلول كلوريد الكالسيوم (2.5 %)، ثم أضيف إلى هذه البياشر قطرات من المحاليل المختلفة التراكيز من الأجنات مع المزيج بواسطة سيرنغ قطرة قطرة على محلول كلوريد الكالسيوم.

كررت العملية على جميع محاليل كلوريد الكالسيوم الثابت التركيز، لحظ عند التقاء قطرة الأجنات مع سطح محلول كلوريد الكالسيوم تشكل محفظة صغيرة الحجم على شكل كرة. رشحت المحاليل السابقة للحصول على محافظ مزيج الكركمين والديكلوفيناك.



الشكل(3): محافظ الكرمين باستخدام الغلاف البوليميري ألجينات الصوديوم

#### خامساً: دراسة فعالية التمحفظ على المحافظ المحضرة باستخدام ألجينات الصوديوم:

أخذت المحافظ ووضعت في بياضر وأضيف لكل بيشر 10ml منظم الفوسفات وتركت لمدة 24 ساعة، وضعت بعد ذلك للتحريك بواسطة محرك مغناطيسي حتى انحلال كامل المحافظ. حلت عينة من كل محلول باستخدام جهاز ال HPLC (Chaudhary *et al.*, 2012)، وحسبت نسبة التمحفظ داخل المحافظ المحضرة.

#### سادساً: دراسة تأثير تغير تركيز كلوريد الكالسيوم على فعالية التمحفظ:

ثبت تركيز الألبينات المستخدم في تحضير المحافظ الدقيقة لمزيج الكرمين والديكلوفيناك 3.5 %، حيث وضع تركيز ثابت من ألجينات الصوديوم في عدة بياضر وتم التحريك حتى انحلال كامل الألبينات في الماء بواسطة محرك مغناطيسي، وأضيف لها محلول مزيج الكرمين وديكلوفيناك الصوديوم ذو التركيز (5-15) ppm على الترتيب.

أخذت عدة بياضر ووضع في كل منها تراكيز مختلفة من كلوريد الكالسيوم (2- 2.5- 3- 3.5- 4- 4.5- 5) %، وأخذ منها 40ml وضعت في بياضر أخرى، أضيفت لهذه المحاليل المختلفة التراكيز بواسطة سيرنج المحاليل المسحوية من الألبينات ثابتة التركيز بإضافة قطرة قطرة على محلول كلوريد الكالسيوم، حيث كررت العملية على جميع محاليل كلوريد الكالسيوم المختلفة التركيز. لحظ عند التقاء قطرة الألبينات مع سطح محلول كلوريد الكالسيوم تشكل محفظة صغيرة الحجم على شكل كرة. رشحت المحاليل السابقة للحصول على محافظ مزيج الكرمين والديكلوفيناك.

أخذت المحافظ ووضعت في بياضر وأضيف لكل بيشر 10ml منظم الفوسفات وتركت لمدة 24 ساعة، وضعت بعد ذلك للتحريك بواسطة محرك مغناطيسي حتى انحلال كامل المحافظ. حلت عينة من كل محلول باستخدام جهاز ال HPLC (Chaudhary *et al.*, 2012)، وحسبت نسبة التمحفظ داخل المحافظ المحضرة.

سابعاً: تحضير المحافظ الدقيقة باستخدام طبقة مضاعفة من الكيتوزان وألجينات الصوديوم:

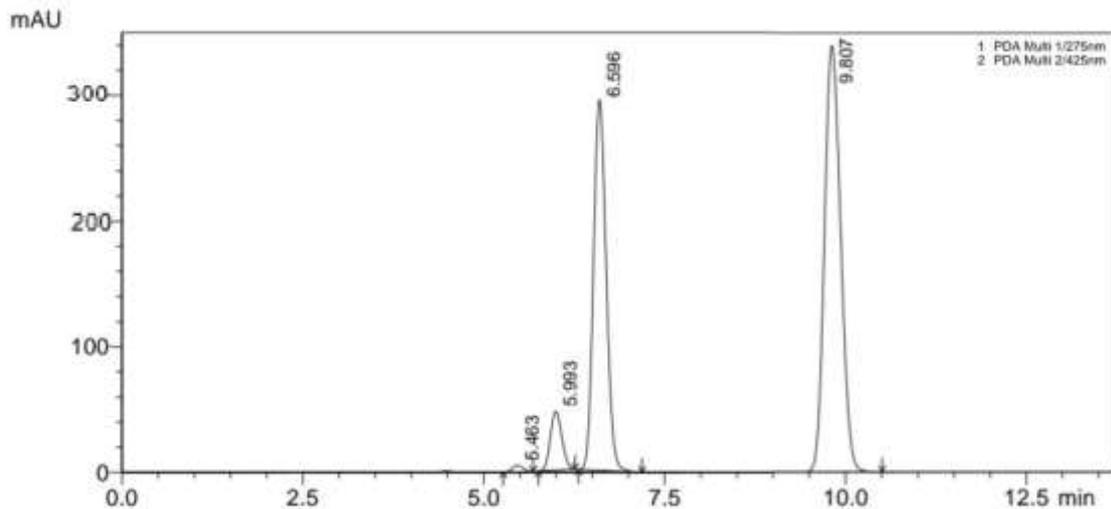
تم تحضير محاليل الكيتوزان (0.25- 0.5 -0.75 -1 -1.5 -2) %، وذلك بأخذ عدة وزنات مختلفة من الكيتوزان الصلبة (2.1- 1.58- 1.05- 0.79- 0.52- 0.26) وذلك باعتبار أن نقاوة الكيتوزان 95 %، ووضعت في دوارق حجمية سعة 100ml وحلت بحمض الخل المحضر سابقاً 1 % وأكمل الحجم حتى علامة السعة. حضرت المحافظ الدقيقة لمزيج الكركمين والديكلوفيناك بألجينات الصوديوم 3.5 % وكلوريد الكالسيوم 3 %، تغطس كل مجموعة من المحافظ السابقة التحضير في محاليل الكيتوزان المحضرة لمدة 15 دقيقة مع التحريك اللطيف، ثم ترشح المحافظ

ثامناً: دراسة فعالية التمحفظ على المحافظ المحضرة باستخدام طبقة مضاعفة من الكيتوزان و ألجينات الصوديوم: أخذت المحافظ ووضعت في بياشر وأضيف لكل بيشر 10ml منظم الفوسفات وتركت لمدة 24 ساعة، وضعت بعد ذلك للتحريك بواسطة محرك مغناطيسي حتى انحلال كامل المحافظ. حللت عينة من كل محلول باستخدام جهاز ال HPLC (Chaudhary *et al.*, 2012)، وحسبت نسبة التمحفظ داخل المحافظ المحضرة.

## النتائج والمناقشة:

### 1. الشروط المثلى لفصل وتحديد مزيج الكركمين والديكلوفيناك باستخدام تقانة ال HPLC:

يوضح الشكل (4) الكروماتوغرام الناتج عن تحليل مزيج مركب الكركمين ومركب ديكلوفيناك الصوديوم وبيين زمن الاحتفاظ لمركب الكركمين ومركب الديكلوفيناك عند طولي الموجة  $\lambda_{\max}(\text{Dic}) = 275\text{nm}$ ،  $\lambda_{\max}(\text{Cur}) = 425\text{nm}$



الشكل (4): الكروماتوغرام الناتج عن تحليل مزيج مركب الكركمين ومركب ديكلوفيناك الصوديوم

بيين الجدول (2) تحليل مزيج الكركمين والديكلوفيناك العياري (5، 15) ppm، وحساب مساحة القمة لكل مركب وزمن الاحتفاظ له وفق الشروط المثلى حسب المرجع (Riham *et al.*, 2024 (a))، (Riham *et al.*, 2024 (b)).

جدول (2): الشروط المثلى لفصل وتحديد مزيج الكركمين والديكلوفيناك باستخدام تقانة ال HPLC

الشروط المثلى		ديكلوفيناك الصوديوم		الكركمين	
نسب الطور المتحرك	ASN/H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> (0.1%) CUR:(60:40 v/v) DIC: (70:30 v/v)	متوسط مساحة القمة	R <sub>t</sub> (min)	متوسط مجموع مساحة القمم	R <sub>t</sub> (min)
درجة الحرارة	25° C	3258989	9.81	2597485	R <sub>t1</sub> =5.46 R <sub>t2</sub> =5.99 R <sub>t3</sub> = 6.59
تدفق الطور المتحرك	0.8 ml/min				
طول الموجة الأمثل	λ <sub>max</sub> (Cur)= 425nm λ <sub>max</sub> (Dic)= 275nm				

## 2. النسبة المئوية للتمحفظ:

تم حساب النسبة المئوية للتمحفظ كما في علاقة النسبة المئوية للمردود

$$\text{النسبة المئوية للمردود} = \frac{\text{الوزن العملي}}{\text{الوزن النظري}} \times 100$$

$$\text{النسبة المئوية للمردود} = \frac{\text{مساحة القمة العملية}}{\text{مساحة القمة العيارية}} \times 100$$

تم حساب النسبة المئوية للتمحفظ وذلك بالاعتماد على مساحة القمم للمحاليل العيارية للمزيج المكون من الكركمين والديكلوفيناك.

## 3. النسبة المئوية لفعالية التمحفظ على المحافظ المحضرة باستخدام ألبينات الصوديوم:

نلاحظ من الجدول (3) زيادة متوسط مساحة القمم بزيادة تركيز الألبينات عند ثبات تركيز كلوريد الكالسيوم وبالتالي تزداد فعالية التمحفظ حتى تركيز 3.5 % ومن ثم تعود لتتخفف الفعالية عند زيادة تركيز الألبينات التي تسبب ازدياداً في لزوجة المحلول وبالتالي تزداد كثافة البوليمير، مما يقلل حجم المحلول المحتجز ضمنها. أما عند تثبيت تركيز الألبينات وتغيير تركيز كلوريد الكالسيوم تزداد متوسط مساحات القمم وبالتالي تزداد الفعالية حتى تركيز 2.5 % وتعود لتتخفف من جديد كما هو موضح في الجدول (4) وهي تعبر عن نسب التمحفظ لكل من الكركمين والديكلوفيناك باستخدام ألبينات الصوديوم وهي نتائج جيدة جداً بالمقارنة مع الدراسات السابقة، ويمكن اعتمادها في تمحفظ هذا المزيج.

بالمقارنة بالدراسات السابقة نلاحظ أن ألبينات الصوديوم استخدمت بكثرة في تمحفظ الكركمين والديكلوفيناك كل على حدى، مما يسمح بمقارنة نتائج تمحفظ المزيج المكون من الكركمين والديكلوفيناك باستخدام ألبينات الصوديوم أيضاً. في دراسة سابقة عام 2023 تم تعيين نسبة التمحفظ الكركمين باستخدام ألبينات الصوديوم وكانت 71% (Shaikh - and Barik., 2023)، وأيضاً تم استخدام الألبينات وبولي لاكتيك في تمحفظ الكركمين وكانت نسبة التمحفظ 81.47% (Paswan *et al.*, 2024)، وهي تتقارب مع النتيجة التي تم الحصول عليها في هذا البحث. أما في دراسة أخرى كانت نسبة التمحفظ الكركمين مع الجينات الكازئين 80% (Zamani *et al.*, 2024). تم تمحفظ الديكلوفيناك باستخدام ألبينات الكالسيوم وكانت نسبة التمحفظ 97.77% (Al-Hazmi *et al.*, 2024).

جدول (3) متوسط مساحة القمم ونسبة التحفظ عند اختلاف تركيز ألجينات الصوديوم وتركيز ثابت من كلوريد الكالسيوم (2.5%)

الديكلوفيناك		الكركمين		تركيز ألجينات الصوديوم %
نسبة تحفظ %	متوسط مساحة القمة	نسبة تحفظ %	متوسط مساحة القمم	
50.5	1645789.4	60.5	1571478.4	2.5
64.1	2089011.9	62.1	1613038.2	3.0
95.9	3125370.4	88.8	2306566.7	3.5
55.4	1805479.9	57.2	1485761.4	4.0
42.8	1394847.3	19.1	496119.6	4.5
35.3	1150423.1	10.5	272735.9	5.0
متوسط مجموع مساحة القمم للكركمين العياري: 2597485				
متوسط مساحة القمة للديكلوفيناك العياري: 3258989				

نلاحظ من نتائج الجدول (4) أن تركيز كلوريد الكالسيوم عامل مهم جداً في زيادة نسبة التحفظ لكل من الكركمين والديكلوفيناك حيث ازدادت من (88.8، 85.9) % إلى (89.5، 98.5) % على الترتيب، ونستنتج أن التركيز 4.5 % لكلوريد الكالسيوم حيث يصبح البوليمير أكثر صلابة وأقل ليونة وبالتالي لا يتم تحفظ للمزيج المدروس.

جدول (4): نسبة التحفظ عند اختلاف تركيز كلوريد الكالسيوم وتركيز ثابت من الألبينات:

الديكلوفيناك		الكركمين		تركيز كلوريد الكالسيوم %
نسبة تحفظ %	متوسط مساحة القمة	نسبة تحفظ %	متوسط مساحة القمم	
79.1	2577860	48.2	1251988	2
98.3	3203586	89.5	2324749	2.5
75.4	2457278	58.7	1524724	3
62.8	2046645	35.7	927302.1	3.5
21.8	710459.6	9.2	238968.6	4
				4.5
متوسط مجموع مساحة القمم للكركمين العياري: 2597485				
متوسط مساحة القمة للديكلوفيناك العياري: 3258989				

4. النسبة المئوية لفعالية التحفظ على المحضرة باستخدام طبقة مضاعفة من الكيروزان و ألجينات الصوديوم: نلاحظ من الجدول (5) عند تثبيت تركيز الألبينات عند (3.5%) وكلوريد الكالسيوم (2.5%) أن باختلاف تركيز الكيروزان تختلف نسبة التحفظ بشكل واضح وصريح ودقيق، حيث أن تركيز الكيروزان 2 % هو أسوأ تركيز حيث انخفضت عندها نسبة التحفظ لمزيج الكركمين والديكلوفيناك إلى (35.5، 59.7) %، أما التركيز 0.5 % هو الأفضل لأن نسبة التحفظ تعتبر الأعلى في هذه الطريقة وهي (91.4، 99.1) % لكل من الكركمين والديكلوفيناك على الترتيب، ويمكن اعتمادها عند تحفظ المزيج المدروس. بالمقارنة بالدراسات السابقة نلاحظ أن الكيروزان بالمشاركة مع أغلفة بوليميرية أخرى استخدمت بكثرة في تحفظ الكركمين وفي تحفظ الديكلوفيناك، مما يسمح بمقارنة نتائج تحفظ المزيج المكون من الكركمين والديكلوفيناك باستخدام الكيروزان مع ألجينات الصوديوم في تشكيل محافظ مضاعفة أيضاً.

تم في دراسة سابقة حساب فعالية التمحفظ وكانت 45-65% باستخدام الكيتوزان وصوديوم تري بولي فوسفات كمادة تغليف في تمحفظ الكركمين (Asif *et al.*, 2023). تم استخدام الكيتوزان والألجينات أيضاً في دراسة عام 2023 لدراسة تمحفظ الكركمين وكانت نسبة التمحفظ له 62% (Asadi *et al.*, 2023)، أما الديكلوفيناك فكانت نسبة التمحفظ بوجود الكيتوزان مع حمض بولي ايتانويك (75-92) % (Elsayed *et al.*, 2023). تتقارب النتائج مع الدراسات السابقة وتتفوق في دراسات أخرى مما يؤكد اعتمادية هذه الطريقة في تمحفظ المزيج المدروس.

جدول (5): نسبة التمحفظ عند تراكيز مختلفة من الكيتوزان وتركيز ثابت من الألجينات وكلوريد الكالسيوم

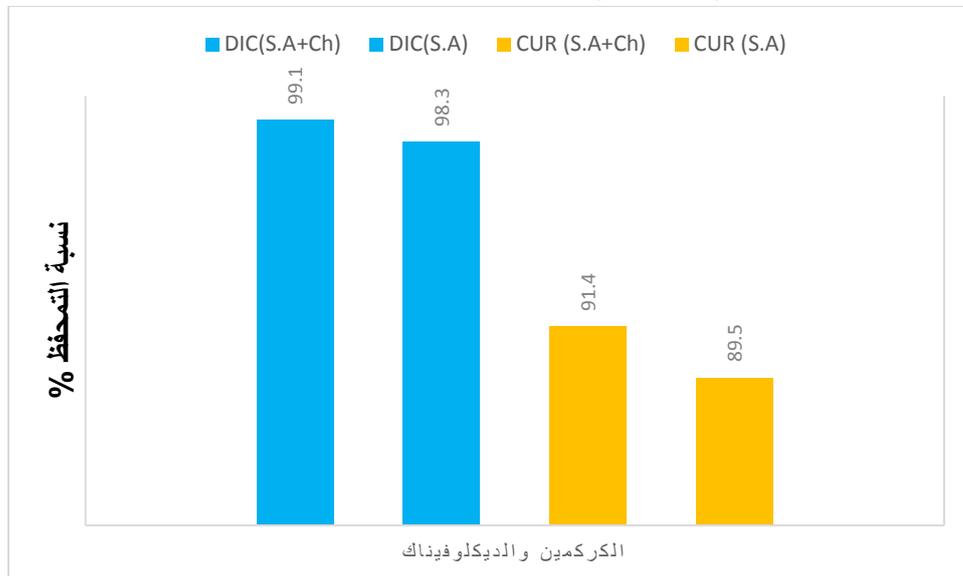
الديكلوفيناك		الكركمين		تركيز الكيتوزان %
نسبة تمحفظ %	متوسط مساحة القمة	نسبة تمحفظ %	متوسط مساحة القمم	
85.7	2792954	72.3	1877981.6	0.25
99.1	3229658	91.4	2374101.3	0.5
89.2	2907018	79.3	2059805.6	0.75
77.5	2525716	54.7	1420824.3	1
65.3	2128120	41.8	1085748.7	1.5
59.7	1945616	35.5	922107.2	2
متوسط مجموع مساحة القمم للكركمين العياري: 2597485				
متوسط مساحة القمة للديكلوفيناك العياري: 3258989				



الشكل(5): محافظ الكركمين المضاعفة باستخدام الغلاف البوليميري ألجينات الصوديوم والكيتوزان

نلاحظ أن فعالية التمحفظ ازدادت بوجود طبقة مضاعفة من ألجينات الصوديوم مع الكيتوزان في تشكيل محافظ عند التركيز (0.5 %) بسبب تشكل غلاف بوليميري جيد لايسمح بتسرب محلول مزيج الكركمين والديكلوفيناك خارج

المحفظة، تعود لتتخفف الفعالية بعد هذا التركيز ويفسر ذلك بأنه يتشكل غلاف يحيط بالمحلول لكن لا يمنع بتسريه من المحفظة وهذا يخفف قيمة فعالية التمحفظ، وذلك يتوافق مع نتائج الدراسة المرجعية (Hasan, A., et al, 2023). يوضح الشكل(6) نسبة تمحفظ كل من الكركمين والديكلوفيناك باستخدام ألجينات الصوديوم (S.A)، والطبقة المضاعفة من الألجينات والكيروزان (S.A+ Ch).



الشكل(6): نسبة التمحفظ % كل من الكركمين والديكلوفيناك باستخدام ألجينات الصوديوم (S.A)، والطبقة المضاعفة من الألجينات والكيروزان (S.A+ Ch)

### الاستنتاجات والتوصيات:

1. تبين النتائج في هذا البحث أن تركيز كلوريد الكالسيوم (2.5%) وتركيز ألجينات الصوديوم (3.5%) هي الأفضل لتشكيل المحافظ الدقيقة.
2. بينت النتائج أن نسبة التمحفظ لمزيج الكركمين والديكلوفيناك هي (89.5 - 98.3) % وذلك باستخدام الغلاف البوليميري ألجينات الصوديوم.
3. تم تطبيق الشروط المثلى لتحضير المحافظ في تحضير محافظ مضاعفة لمزيج الكركمين والديكلوفيناك باستخدام الكيروزان مع ألجينات الصوديوم وكان تركيز الكيروزان 0.5% هو الأفضل بنسبة تمحفظ لمزيج الكركمين والديكلوفيناك هي (91.4 - 99.1) %، وهي أعلى نسبة تمحفظ لمزيج الكركمين والديكلوفيناك.
4. يوصى بتحضير محافظ دقيقة من مزيج الكركمين والديكلوفيناك بالطريقة المثالية نفسها.
5. يوصى بتحضير محافظ دقيقة لمركبات ومزائج أخرى بنفس الطريقة وتحديد الشروط المثالية لها.

### References:

1. AL-HAZMI, Gamil AAM, et al. Guava seed activated carbon loaded calcium alginate aerogel for the adsorption of diclofenac sodium: Characterization, isotherm, kinetics, and optimization via Box-Behnken design. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2024, 129995.
2. ALKASSAB, Razan Shoujaa; HILAL, Yumen; SWED, Amin. Development and Validation of a Simple Spectrophotometric Method for Quantitative Determination of

Sodium Diclofenac in Modified-Release Tablets. *Brazilian Journal of Analytical Chemistry*, 2023, 10.39: 70-79.

3. ANJANI, Qonita Kurnia, et al. A new and sensitive HPLC-UV method for rapid and simultaneous quantification of curcumin and D-panthenol: application to in vitro release studies of wound dressings. *Molecules*, 2022, 27.6: 1759.

4. ARANAZ, Inmaculada, et al. Chitosan: An overview of its properties and applications. *Polymers*, 2021, 13.19: 3256.

5. AS Loquercio, Preparation and Characterization of Chitosan-Alginate Nanoparticles for Trans-Cinnamaldehyde Entrapment, 2014.

6. ASADI, Sepideh, et al. Aerosol assisted synthesis of a pH responsive curcumin anticancer drug nanocarrier using chitosan and alginate natural polymers. *Scientific Reports*, 2023, 13.1: 19389.

7. ASHOUR, Heba K., et al. Stability indicating multipurpose HPLC-DAD method for synchronic analysis of three non-steroidal anti-inflammatory drugs with a co-formulated preservative in ophthalmic dosage forms-Greenness/whiteness assessment. *Microchemical Journal*, 2024, 110092.

8. ASIF, Hafiz Muhammad, et al. Synthesis, characterization and evaluation of anti-arthritis and anti-inflammatory potential of curcumin loaded chitosan nanoparticles. *Scientific Reports*, 2023, 13.1: 10274.

9. CHAO, In-Cheng, et al. Simultaneous quantification of three curcuminoids and three volatile components of curcuma longa using pressurized liquid extraction and high-performance liquid chromatography. *Molecules*, 2018, 23.7: 1568.

10. CHAUDHARY, Hema, et al. Development and validation of RP-HPLC method for simultaneous estimation of diclofenac diethylamine and curcumin in transdermal gels. *Journal of liquid chromatography & related technologies*, 2012, 35.1: 174-187.

11. ELSAYED, Rasha E., et al. Impact of the Configurational Microstructure of Carboxylate-Rich Chitosan Beads on Its Adsorptive Removal of Diclofenac Potassium from Contaminated Water. *Polymers*, 2023, 15.21: 4274.

12. FU, Yaw-Syan, et al. Pharmacological properties and underlying mechanisms of curcumin and prospects in medicinal potential. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2021, 141: 111888.

13. HAQ, Nazrul, et al. Greener stability-indicating HPLC approach for the determination of curcumin in in-house developed nanoemulsion and Curcuma longa L. extract. *Separations*, 2023, 10.2: 98.

14. HASAN, Azez, et al. Preparation of Selenium Micropreservatives Using different Coatings and Evaluating the Preservation Ratio. *Tishreen University Journal-Basic Sciences Series*, 2023, 45.1: 89-102.

15. JIMÉNEZ-GÓMEZ, Carmen P.; CECILIA, Juan Antonio. Chitosan: a natural biopolymer with a wide and varied range of applications. *Molecules*, 2020, 25.17: 3981.

16. KHAJAVIAN, Mohammad, et al. Chitin and derivative chitosan-based structures—Preparation strategies aided by deep eutectic solvents: A review. *Carbohydrate Polymers*, 2022, 275: 118702.

17. KOU, Shijie Gabriel; PETERS, Linda; MUCALO, Michael. Chitosan: A review of molecular structure, bioactivities and interactions with the human body and micro-organisms. *Carbohydrate Polymers*, 2022, 282: 119132.

18. LAI, Joanne, et al. Alginate-based encapsulation fabrication technique for drug delivery: an updated review of particle type, formulation technique, pharmaceutical ingredient, and targeted delivery system. *Pharmaceutics*, 2024, 16.3: 370.
19. LEE, Ching-Hwa; NALLURI, Lakshmi P.; POPURI, Srinivasa R. Optimization studies for encapsulation and controlled release of curcumin drug using Zn<sup>2+</sup> cross-linked alginate and carboxy methylcellulose blend. *Journal of Polymer Research*, 2019, 26: 1-17.
20. MALLYA, Pooja; YARLAGADDA, Dani Lakshman; LEWIS, Shaila. A Novel Stability-Indicating RP-HPLC Method for the Simultaneous Estimation and In Vitro and In vivo Evaluation: Curcumin and Naringin Co-amorphous System. *Food Analytical Methods*, 2024, 17.5: 751-765.
21. MARQUES, Sara S.; SEGUNDO, Marcela A. Nanometrics goes beyond the size: Assessment of nanoparticle concentration and encapsulation efficiency in nanocarriers. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2024, 117672.
22. (a) Moalla, R., Maarouf, M., Arraj, T., Zam, W. Development of an analytical method for the determination of Sodium Diclofenac using high-performance liquid chromatography (HPLC) technology. *Aleppo University Journal-Basic Sciences Series*, 2024, 177.947.
23. (b) Moalla, R., Maarouf, M., Arraj, T., Zam, W. The identification and detection of curcumin and its constituent compounds using high-performance liquid chromatography (HPLC) technology, and determination of the optimal conditions for the developed analytical method. *Tishreen University Journal-Basic Sciences Series*, 2024, 46.3: 2663-4252.
24. MUKHTAR, Mahwash, et al. Chitosan biopolymer, its derivatives and potential applications in nano-therapeutics: A comprehensive review. *European Polymer Journal*, 2021, 160: 110767.
25. NALINI, Calamur Nagarajan; SAHINI, Kondaviti; TEJA, Alapati. A VALIDATED STABILITY INDICATING METHOD FOR THE ESTIMATION OF DICLOFENAC ACID IN BULK AND DOSAGE FORMS USING LC-PDA. 2020.
26. OPUSTILOVÁ, Kristýna, et al. Physico-chemical study of curcumin and its application in O/W/O multiple emulsion. *Foods*, 2023, 12.7: 1394.
27. PASWAN, Meenakshi, et al. Preparation of sodium alginate/Cur-PLA hydrogel beads for curcumin encapsulation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2024, 254: 128005.
28. PENA, Evelyn; INATTI, Alfredo; MARTIN, Xenón Serrano. Bioequivalence Study of Diclofenac 150 mg XR: A Single-Dose, Randomized, Open Label, 2-Period Crossover Study in Healthy Adult Volunteers. *Journal of Biosciences and Medicines*, 2023, 11.11: 23-32.
29. RAVI, Seenu, et al. Covalent organic polymer/chitosan multifunctional granular aerogels for diclofenac sodium removal from water. *Chemical Engineering Journal*, 2024, 492: 152334.
30. SADEGHI, Alireza, et al. Potential applications of encapsulated yeasts especially within alginate and chitosan as smart bioreactors and intelligent micro-machines. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, 2024, 100513.
31. SHAIKH, Shaukat Ali M.; BARIK, Atanu. Encapsulation of curcumin in alginate microbeads (AMB) for control release of curcumin. *Journal of Chemical Sciences*, 2023, 135.2: 39.

32. SORASITTHIYANUKARN, Feuangthit Niyamissara, et al. Stability and biological activity enhancement of fucoxanthin through encapsulation in alginate/chitosan nanoparticles. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2024, 130264.
33. SULIMAN, Muath, et al. B40 and SiB39 fullerenes enhance the physicochemical features of curcumin and effectively improve its anti-inflammatory and anti-cancer activities. *Journal of Molecular Liquids*, 2024, 395: 123816.
34. XU, Yaguang, et al. The application of encapsulation technology in the food Industry: Classifications, recent Advances, and perspectives. *Food Chemistry: X*, 2024, 101240.
35. Yang, H., Wang, C., Zhu, W., Jin, P., Li, F., & Fan, J. (2023). A Carboxyl Group-Functionalized Ionic Liquid Hybrid Adsorbent for Solid-Phase Extraction and Determination of Trace Diclofenac Sodium in Milk Samples. *Molecules*, 28(17), 6216.
36. YARNPAKDEE, Suthasinee, et al. Structural Characterization and Antimicrobial Activity of Pearl Oyster (*Pinctada Maxima*) Shell as Affected by Calcination Temperature. *Available at SSRN 4821440*.
37. ZAMANI, Sepehr, et al. Assessing the efficacy of curcumin-loaded alginate hydrogel on skin wound healing: A gene expression analysis. *Journal of Biomaterials Applications*, 2024, 38.9: 957-974.