

OPTIMIZACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE UN SISTEMA MULTIPARTICULAR DE METRONIDAZOL

Optimization and Characterization of a Multiparticulate Drug Delivery System for Metronidazole

Mercedes LUCAS COLOMBO 

María José DE JESÚS VALLE 

Cristina MADERUELO MARTÍN 

Área de Farmacia y Tecnología Farmacéutica

Facultad de Farmacia, Campus Miguel de Unamuno, 37007 Salamanca, España

* Correo-e: cmaderuelo@usal.es; mariajosedj@usal.es

RESUMEN: El metronidazol es un agente antimicrobiano de amplio espectro, eficaz frente a bacterias anaerobias y protozoos, aunque su rápida metabolización hepática limita su eficacia terapéutica. El trabajo actual se centró en el desarrollo y optimización de microesferas de liberación sostenida y dirigida al colon. Se elaboraron cuatro formulaciones mediante gelificación iónica empleando alginato sódico combinado con goma xantana o *chitosan*, variando el tipo de polímero y cantidad de fármaco. Se evaluaron las características fisicoquímicas, comportamiento de hinchamiento/erosión y perfiles de liberación.

Las formulaciones con goma xantana presentaron mayor encapsulación de fármaco y, una menor cantidad de fármaco inicial combinado con goma xantana permitió una mayor liberación de fármaco.

En conclusión, las formulaciones con goma xantana resultaron más prometedoras que las de *chitosan*, requiriéndose estudios adicionales para optimizar la cinética de liberación y carga del sistema.

Palabras clave: sistema multiparticular; microesferas; metronidazol; *chitosan*; goma xantana.

ABSTRACT: Metronidazole is a broad-spectrum antimicrobial agent effective against anaerobic bacteria and protozoa, although its rapid hepatic metabolism limits its therapeutic efficacy. The present work focused on the development and optimization of microspheres for sustained release targeted to the colon.

Four formulations were prepared by ionic gelation using sodium alginate combined with xanthan gum or *chitosan*, varying the type of polymer and the amount of drug. Physicochemical characteristics, swelling/erosion behavior, and release profiles were evaluated. Formulations with xanthan gum displayed higher drug encapsulation, and a lower drug load combined with xanthan gum allowed greater drug release.

In conclusion, xanthan gum formulations proved more promising than *chitosan* ones, requiring further studies to optimize release kinetics and drug loading.

Keywords: multiparticle system; microspheres; metronidazole; chitosan; xanthan gum.

1. INTRODUCCIÓN

El metronidazol, derivado del 5-nitroimidazol, bactericida de amplio espectro frente a anaerobios estrictos y protozoos, es eficaz en patologías del tracto gastrointestinal (TGI) (Onderdonk AB et al., 1978; Ralph ED et al., 1974. Sutherland L et al., 1991).

A pesar de su elevada biodisponibilidad oral (100%) y absorción gastrointestinal (~99%), su rápida metabolización hepática y corta vida media de eliminación (8-9 h) limitan su eficacia terapéutica, al requerir administraciones frecuentes (Bergan & Arnold, 1980).

Ante estas limitaciones, el diseño de sistemas multiparticulares de liberación controlada en el tracto gastrointestinal representa una alternativa prometedora, al permitir proteger el fármaco, reducir su metabolización y liberar de forma sostenida en regiones específicas del TGI, mejorando su eficacia y minimizando efectos adversos (Ghosh y Basak, 2025; Kállai-Szabó et al., 2024; Musa et al., 2025; Sandu et al., 2024).

Sin embargo, factores fisiológicos del TGI, como el pH, la motilidad, la mucosa y la actividad enzimática deben considerarse. Por ello, polisacáridos naturales, como goma xantana, *chitosan* y alginato sódico se emplean como matrices poliméricas para la encapsulación de metronidazol en forma de microesferas, por su biocompatibilidad, biodegradabilidad y capacidad gelificante (Das et al., 2024; Rakshit et al., 2024).

Investigaciones previas han demostrado que la gelificación iónica, técnica de encapsulación basada en la interacción iónica de estos polímeros, permite obtener microesferas con propiedades adecuadas para la liberación colónica de metronidazol (Manna et al., 2024), mostrando una liberación retardada y protección del principio activo durante el tránsito gastrointestinal (Cohen & Poverenov, 2022; Muthumari et al., 2023).

En el presente estudio se desarrollaron cuatro formulaciones basadas en combinaciones de metronidazol con goma xantana o *chitosan* como formadores de matriz y alginato sódico como polímero principal, con el objetivo de evaluar el efecto de dichas combinaciones y la cantidad de fármaco empleado sobre la liberación controlada y dirigida hacia el colon.

2. OBJETIVO

El objetivo general del trabajo es optimizar un sistema multiparticular, en concreto microesferas, que contenga metronidazol como fármaco modelo, y goma xantana, *chitosan* y alginato sódico, como polímeros, para conseguir una liberación controlada en el colon.

Para ello, se investigarán las condiciones óptimas para la obtención de microesferas, teniendo en cuenta variables como el polisacárido y la cantidad de fármaco empleada además de caracterizar los lotes obtenidos, evaluar la capacidad de encapsulación y la eficiencia de carga del fármaco en el sistema.

3. MATERIALES Y METODOLOGÍA

3.1. *Materiales*

Se utilizaron como materias primas metronidazol (Fagron Ibérica S.A.U) fármaco modelo; goma xantana (Xantural® 75 Jungbunzlauer), alginato sódico (690 cPsGuinama) y *chitosan* de alta viscosidad (2000-3500 cPs, Glentham® Life Sciences GmbH), como polímeros.

Se usó glutaraldehído (Solución al 50%, Sigma Aldrich) como agente reticulante y, cloruro de calcio (Acofarma), como agente gelificante. Se empleó ácido láctico como acidificante (Sigma Aldrich). El agua purificada actuó como disolvente.

3.2. *Formulación*

Se elaboraron cuatro lotes siguiendo un diseño factorial 2^2 para evaluar el tipo de polímero (goma xantana vs. *chitosan*) y la concentración de metronidazol (0,40 % vs. 1,00 % p/p). Los lotes 1 y 2 contenían goma xantana y los lotes 3 y 4 emplearon *chitosan*. El método empleado fue la gelificación iónica. Todos los lotes

contenían alginato sódico al 2 % como matriz estructural, 0,5 ml de solución de glutaraldehído al 50 % como agente reticulante, y agua purificada como vehículo. En los lotes con *chitosan* se empleó ácido láctico y ajuste de pH con NaOH 1M. La solución de cloruro cálcico al 6 % se utilizó exclusivamente en el proceso de gelificación externa, sin formar parte de la masa final.

Se disolvió goma xantana (0,7%) o *chitosan* (0,07%) en agua desionizada (acidificada con láctico al 2% por 24h y ajustada a pH 5 para el *chitosan*). El metronidazol se dispersó en esta solución a temperatura ambiente, utilizando un agitador Heidolph y se incorporó a una mezcla de alginato al 2,0%. Tras añadir glutaraldehído y agitar 15 minutos, la mezcla se goteó con una bomba Panlab 63-Ly jeringa de 24G (6 cm altura, flujo 3 mL/h) sobre CaCl₂ al 6%. Las microesferas, recogidas cada 5 minutos, se lavaron y filtraron. Posteriormente, se sometieron a un segundo entrecruzamiento en agua y glutaraldehído por 30 minutos. Finalmente, se secaron a 30 °C (en estufa Nahita 632) sobre un tamiz de 315 µm: los lotes de xantana entre 1-2 horas y los de *chitosan* durante 2 horas.

3.3. Caracterización de las micropartículas

3.3.1. Morfología

La morfología y superficie fueron determinadas mediante visualización en microscopio óptico (Swift Optical) haciendo uso del software Swift Easy View.

3.3.2. Tamaño

Tras el proceso de secado en estufa (Nahita 632) a 30 °C se caracterizó el tamaño de las microesferas secas con una cascada de tamices (Erweka VT) compuestos por la base, un tamiz de 1 mm y uno de 1,25 mm.

3.3.3. Carga y eficacia de encapsulación

La cuantificación se realizó mediante UHPLC. Para ello, 50 mg de microesferas secas trituradas de cada lote se disolvieron en tampón fosfato 7,4. El contenido de fármaco en las microesferas se determinó de forma indirecta, cuantificándolo en el agua de lavado, medio gelificante y solución de glutaraldehído final.

La carga (L) y eficacia de encapsulación (EE) se calcularon mediante las siguientes ecuaciones:

$$EE (\%) = \left(\frac{mg \text{ reales en esferas}}{mg \text{ teórico fármaco}} \right) \times 100$$

$$L (\%) = \left(\frac{mg \text{ reales en esferas}}{(g \text{ extruídos } \times g \text{ fármaco})} \right) \times 100$$

3.3.4. Pérdida de peso durante el secado (WL) y humedad residual (MC)

La pérdida de peso durante el secado se realizó mediante un análisis gravimétrico. Se pesaron las microesferas de cada lote en una balanza analítica Mettler Toledo XS105 antes y después del secado. La pérdida de peso se calculó mediante la siguiente ecuación.

$$WL (\%) = \frac{W_w - W_D}{W_w} \times 100$$

Donde W_w es el peso de las microesferas tras el lavado y W_D es el peso tras el secado.

La humedad residual se determinó secando las microesferas de cada lote en estufa (Nahita 632) a una temperatura de 60°C, hasta peso constante y se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$MC (\%) = \frac{W_D - W}{W_D} \times 100$$

Donde W_D es el peso de las microesferas secas a 30 °C y W es el peso en condiciones de secado completo.

3.3.5. Ensayo de cesión

Se pesaron 300 mg de microesferas por lote y se incorporaron en 100 mL de tampón fosfato (pH 7,2). Se mantuvieron en agitación constante en un agitador orbital (Labnet 222DS) a 37°C y 100 rpm. Se tomaron alícuotas por duplicado en tubos de ensayo a los 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 360, 420 y 480 minutos para su posterior análisis.

3.3.6. Hinchamiento y erosión (SwEr)

Se pesaron 30 mg de microesferas por lote y se incorporaron en 10 mL de tampón fosfato (pH 7,2). Las microesferas se incorporaron en tubos de ensayo con el medio, y se realizaron extracciones a intervalos de 60, 120, 180, 240, 300, 360, 420 y 480 minutos. Tras cada extracción, las microesferas fueron retiradas del medio, filtradas para eliminar el exceso de agua superficial y finalmente pesadas. El grado de hinchamiento y erosión, se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$SwEr = \left(\frac{W_t - W_0}{W_0} \right) \times 100$$

Dónde W_t , representa el peso de las microesferas en un tiempo determinado y W_0 , corresponde al peso inicial de las microesferas secas.

Un valor positivo del SwEr, indica una absorción de agua y un aumento de peso por hinchamiento. Por el contrario, un valor negativo del SwEr refleja fenómenos de erosión. Se representó gráficamente el porcentaje de SwEr frente al tiempo para describir el perfil de hinchamiento y erosión de las microesferas. Cada lote se analizó por duplicado.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se elaboraron cuatro lotes según la metodología anterior para estudiar el efecto del tipo de polímero y la cantidad de fármaco empleada. Los resultados de la evaluación se presentan a continuación.

4.1. Morfología

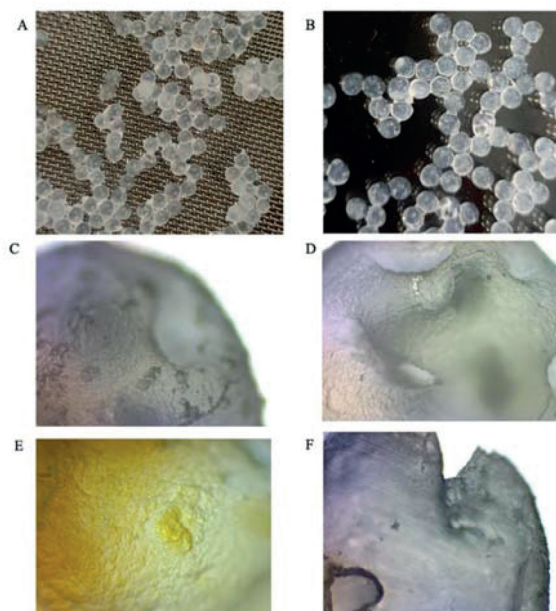


Figura 1. Imágenes obtenidas por microscopia de las superficies y cortes transversales de las microesferas de cada lote. Microesferas hidratadas tras el proceso de filtración (A y B); Superficie de las microesferas de la formulación 1 (C); Corte transversal de las microesferas de la formulación 2 (D); Superficie de las microesferas de la formulación 3 (E); Corte transversal de las microesferas de la formulación 4 (F).

Las imágenes obtenidas por microscopía se muestran en la Figura 1. Se aprecia una morfología predominantemente esférica y uniforme en tamaño de las microesferas. Se observa una superficie de rugosidad variable con presencia de algunas irregularidades. Además, se identifican áreas con pigmentación amarilla relacionadas con la precipitación del agente reticulante, glutaraldehído. La textura irregular observada probablemente sea debido a la naturaleza de los polisacáridos o bien al proceso de secado.

4.2. Tamaño

Los lotes 1 y 2 presentan micropartículas secas con el mismo rango de tamaño de partícula, comprendido entre 1 y 1,25 mm. Las microesferas de los lotes 3 y 4 mostraron un diámetro ligeramente menor (0,710 – 1 mm).

4.3. Carga y eficacia de encapsulación, pérdida de peso durante el secado (WL) y humedad residual (MC)

Los datos reflejados en la tabla 1, evidencian un aumento de la carga de encapsulación al incrementar la cantidad de fármaco tanto en los lotes de goma xantana como en los de *chitosan*.

El uso de *chitosan*, como polímero base (lotes 3 y 4), da lugar a valores notablemente más bajos tanto en la carga (L) como en la eficacia de encapsulación (EE), independientemente de la cantidad de fármaco.

Tabla 1. Valores de la pérdida de agua (WL), contenido de humedad (MC), eficacia de encapsulación (EE) y carga (L) de las microesferas, en función de las diferentes variables.

Lote	Variables estudiadas	L (%)	EE (%)	WL (%)	MC (%)
1	0,4 g fármaco; Goma xantana	3,91	24,02	124,23	10,15
2	1,0 g fármaco; Goma xantana	32,22	82,85	182,57	8,57
3	0,4 g fármaco; <i>Chitosan</i>	3,23	16,31	86,69	59,57
4	1,0 g fármaco; <i>Chitosan</i>	7,52	15,27	80,39	53,53

En cuanto a la pérdida de peso (WL), los lotes formulados con goma xantana presentan valores más elevados de pérdida de peso que los formulados con *chitosan*, posiblemente porque la matriz formada por goma xantana tiende a retener menos la humedad residual. Se observa una clara diferencia en los valores de MC según el polímero utilizado, siendo considerablemente mayor en los lotes de *chitosan*.

Esta diferencia puede atribuirse a la alta capacidad hidrofílica del *chitosan* y a la presencia de grupos aminos protonables en su molécula, capaces de formar enlaces con moléculas de agua y una estructura más porosa, generando una matriz con mayor capacidad de adsorción hídrica. Por el contrario, la goma xantana de naturaleza aniónica y estructura más rígida, presenta menor afinidad por el agua (Layek B, 2024; Luo Y, Wang Q, 2013)

4.4. Ensayo de cesión

La Figura 2 refleja el perfil de liberación de metronidazol desde las microesferas a lo largo del tiempo. Estos resultados permiten observar las diferencias en el perfil de liberación y el comportamiento de cada lote formulado.

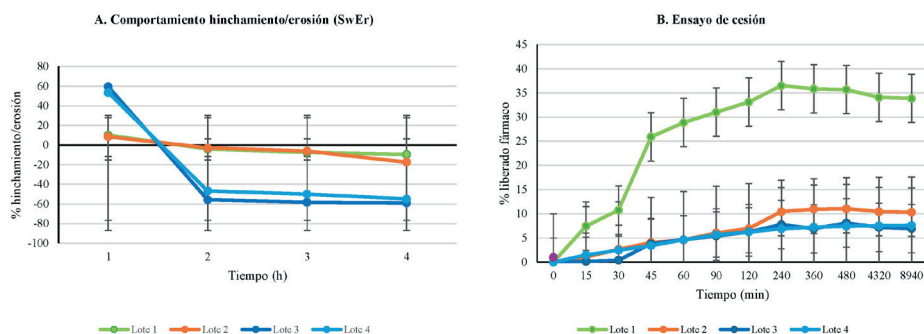


Figura 2. Comportamiento de hinchamiento/erosión (A) y perfil de liberación de metronidazol (B) desde las microesferas en condiciones gastrointestinales simuladas.

Los perfiles de liberación muestran porcentajes de fármaco liberado muy bajos en la mayoría de los lotes con valores máximos que no superan el 10% incluso después de varios días. Esto podría deberse a que se trata de matrices poliméricas densas o con fuertes interacciones entre el fármaco y el polímero que impiden la cesión. No obstante, el lote 1 (400 mg de fármaco y goma xantana) presenta un perfil de cesión diferente a los demás.

4.5. Hinchamiento y erosión (SwEr)

En la Figura 2, se muestra el comportamiento de hinchamiento y erosión (SwEr) de los diferentes lotes formulados. Se observa que, todos los lotes experimentan una evolución hacia valores negativos de SwEr con el tiempo.

Los lotes formulados con *chitosan* mostraron un hinchamiento inicial muy elevado seguido de una erosión muy marcada tras la primera hora del ensayo que es algo mayor en el lote 3. Este comportamiento sugiere una marcada inestabilidad estructural del *chitosan* en el medio del ensayo. Por el contrario, los lotes formulados con goma xantana presentan un hinchamiento inicial moderado seguido de una erosión también moderada que se estabiliza en el tiempo. Estos resultados son indicativos de una mayor estabilidad estructural de goma xantana en medios acuosos.

A la vista de los resultados podemos concluir que la erosión excesiva de los lotes de *chitosan* no garantiza mayor liberación del fármaco. El hinchamiento y erosión moderadas propias de la goma xantana parecen más favorables para la liberación de metronidazol, pero solo hasta cierto punto, ya que tan solo el lote 1 consigue liberar una fracción importante, y no es completa.

5. CONCLUSIONES

Se desarrollaron microesferas cargadas de metronidazol, basadas en la combinación de goma xantana o *chitosan* con alginato sódico para la liberación controlada del fármaco a lo largo del sistema digestivo.

El lote 2, con una proporción mayor de fármaco y goma xantana como polímero base, destacó como la formulación capaz de alcanzar una encapsulación superior al 80% del fármaco. Sin embargo, el porcentaje de metronidazol liberado fue semejante en los lotes 2, 3 y 4, siendo el lote 1 (400 mg de fármaco y goma xantana) el que consiguió liberar una cantidad mayor de fármaco al medio.

Por todo ello, los lotes de goma xantana son más favorables a continuar con el desarrollo de las formulaciones, siendo necesario optimizarlos con el objetivo de mantener la capacidad de carga del lote 2 modulando adecuadamente la cinética de liberación.

6. BIBLIOGRAFÍA

- BERGAN T, ARNOLD E. Pharmacokinetics of metronidazole in healthy adult volunteers after tablets and suppositories. *Chemotherapy*. 1980;26(4):231-241.
- COHEN E, POVERENOV E. Hydrophilic chitosan derivatives: synthesis and applications. *Chemistry*. 2022;28(67).
- DAS S, SAMANTA A, DAS S, NAYAK AK. Sustained release of acyclovir from alginate-gellan gum and alginate-xanthan gum microbeads. *JCIS Open*. 2024;13:100106.
- GHOSH S, BASAK A. Gellan gum-based microbeads for colon-targeted drug delivery: a promising polysaccharide for controlled and site-specific release. *Int J Biol Macromol*. 2025;310(Pt 2):143276.

- KÁLLAI-SZABÓ N, FARKAS D, LENGYEL M, BASA B, FLECK C, ANTAL I, et al. Microparticles and multi-unit systems for advanced drug delivery. *Eur J Pharm Sci.* 2024;194:106704.
- LAYEK B. A comprehensive review of xanthan gum-based oral drug delivery systems. *Int J Mol Sci.* 2024;25(18):10143.
- LUO Y, WANG Q. Recent development of chitosan-based polyelectrolyte complexes with natural polysaccharides for drug delivery. *Int J Biol Macromol.* 2014;64:353-367.
- MANNA S, KARMAKAR S, SEN O, SINHA P, JANA S, JANA S, et al. Recent updates on guar gum derivatives in colon-specific drug delivery. *Carbohydr Polym.* 2024;334:122009.
- MUSA N, LAYAS NAM, MOHAMAD ZIN NZ. Polysaccharide carriers as oral colon-specific drug delivery systems for colon cancer treatment. *Nano Trends.* 2025;10:100102.
- MUTHUMARI B, KUMAR BV, KAVITHA M, KUMAR JKJP, ARUMUGAM N, BASU MJ, et al. Optimization of sodium alginate-galactoxyloglucan blended hydrogel beads through ionotropic gelation method. *Int J Biol Macromol.* 2023;242(Pt 1):124630.
- ONDERDONK AB, HERMOS JA, DZINK JL, BARTLETT JG. Protective effect of metronidazole in experimental ulcerative colitis. *Gastroenterology.* 1978;74(3):521-526.
- RAKSHIT P, GIRI TK, MUKHERJEE K. Research progresses on carboxymethyl xanthan gum: review of synthesis, physicochemical properties, rheological characterization and applications in drug delivery. *Int J Biol Macromol.* 2024;266(Pt 1):131122.
- RALPH ED, CLARKE JT, LIBKE RD, LUTHY RP, KIRBY WM. Pharmacokinetics of metronidazole as determined by bioassay. *Antimicrob Agents Chemother.* 1974;6(6):691-696.
- SANDU MKR, MAJUMDAR S, CHATTERJEE S, MAZUMDER R. Optimization and characterization of xanthan gum-based multiparticulate formulation for colon targeting. *Intell Pharm.* 2024;2(3):339-345.
- SUTHERLAND L, SINGLETON J, SESSIONS J, HANAUER S, KRAWITT E, RANKIN G, et al. Double-blind, placebo-controlled trial of metronidazole in Crohn's disease. *Gut.* 1991;32(9):1071-1075.