



Universidad Autónoma de Querétaro.  
Facultad de Ingeniería  
Maestría en Ciencias (Nanotecnología)

Evaluación de propiedades antioxidantes y antiproliferativas de  
nanofibras poliméricas cargadas con extractos acuosos de *Cuphea*  
*aequipetala*.

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de  
**Maestra en Ciencias (Nanotecnología)**

Presenta:

Estefanía Abigail De la Mora Núñez.

Dirigido por:

Dr. Héctor Paul Reyes Pool.

Co-dirigido por:

Dra. Daniela Edith Salado Leza.

Dr. Héctor Paul Reyes Pool

Presidente

Dra. Daniela Edith Salado Leza

Secretario

Dr. Rodrigo Rafael Velázquez Castillo

Vocal

Dr. Rufino Nava Mendoza

Sinodal

Dra. Luz Eugenia Alcántara Quintana

Sinodal

Centro Universitario, Querétaro, Qro.

Fecha de aprobación por el Consejo Universitario Junio, 2025.

México

La presente obra está bajo la licencia:  
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

### Usted es libre de:

**Compartir** — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

### Bajo los siguientes términos:



**Atribución** — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.



**NoComercial** — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



**SinDerivadas** — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

**No hay restricciones adicionales** — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

### Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.

## Dedicatoria.

Este proyecto se finalizó gracias al apoyo de muchas personas que estuvieron presentes a mi lado ayudándome con sus conocimientos y su apoyo. Quiero dedicárselo a cada uno de ellos.

Especialmente dedico y agradezco con todo mi amor y cariño este proyecto a mi mamá Abigail Núñez Sánchez por estar incondicionalmente conmigo dándome su apoyo siempre en cada etapa de mi vida, especialmente por apoyarme en la continuación de mis estudios de Maestría. De igual manera dedico con mucho amor y cariño dándole mi total gratitud a mi novio Marcos Almanza Ramírez por brindarme sus conocimientos en el laboratorio, por la elaboración de los equipos de electrohilado, así como todo su amor, apoyo y compañía en el proceso de mi proyecto.

## Agradecimientos.

En primer lugar, quiero agradecer a mi familia porque sin ellos esto no hubiera sido posible, por estar siempre presentes brindándome su apoyo, comprensión y amor, le agradezco profundamente a mi mamá Abigail Núñez Sánchez por siempre ayudarme a culminar mis estudios profesionales, darme su paciencia, cariño, consejos y darme el apoyo que necesito. Agradezco hasta donde me esté viendo, con mucho cariño a mi papá Luis Carlos De la Mora Montes (†) por darme la inspiración de siempre seguir adelante y no darme por vencida. A mi hermano Carlos Diego De la Mora Núñez por brindarme sus conocimientos y paciencia, a mi hermana Elendil Goretti De la Mora Núñez por quedarse a mi lado hasta tarde, aún a la distancia, por darme ánimos y su apoyo para seguir con mi proyecto. A mis abuelitos Alicia Sánchez Espino, Rubén Núñez Piña y María Celina Montes Santillana, por estar siempre para mí cuando los necesito, por su apoyo emocional y económico para finalizar la Maestría y especialmente por brindarme su apoyo incondicional, son mi ejemplo a seguir. A mi novio Marcos Almanza Ramírez por permanecer a mi lado en el transcurso de mi proyecto aún a la distancia, por su conocimiento y elaboración de los equipos de electrohilado, por su apoyo, amor y comprensión, por siempre darme ánimos en las dificultades tanto personales como académicas que surgieron, por ser mi mayor apoyo para la culminación de mi proyecto y por su grata compañía en el laboratorio. A mis amigos y compañeros de laboratorio de Querétaro y San Luis Potosí, que siempre estuvieron dispuestos a darme su apoyo en las dificultades que surgieron, por ayudarme a continuar y no darme por vencida, por su cariño, consejos y por estar siempre a mi lado.

También quiero agradecer a la Universidad Autónoma de Querétaro por brindarme la información académica necesaria, así como a todos y cada uno de los doctores que me impartieron sus conocimientos a lo largo de mi posgrado. A mi director de tesis el Dr. Héctor Paul Reyes Pool por darme la oportunidad de formar parte de su equipo de trabajo, por el tiempo brindado y sus consejos para la elaboración de mi proyecto de tesis, por sus conocimientos que adquirí, su apoyo en todo momento y por enseñarme a crecer tanto personal como profesionalmente. A mi co-directora la Dra. Daniela Edith Salado Leza por

apoyarme, asesorarme y brindarme sus conocimientos que pude adquirir durante este periodo de tiempo, por el buen trato tanto dentro como fuera del instituto durante mi estancia en San Luis Potosí.

Al Instituto de Física de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí por brindarme sus instalaciones, así como los equipos necesarios ya que sin su ayuda no sería posible la culminación de este proyecto.

Agradezco de igual manera a CONAHCYT por otorgarme la beca para poder estudiar mi posgrado, porque gracias al apoyo económico pude realizar mi proyecto sin ninguna limitación.

## Índice.

I. Introducción.....	3
II. Antecedentes. ....	5
III. Fundamentación teórica.....	7
3.1    Cáncer: .....	7
3.2    Cáncer cervicouterino:.....	9
3.2.1 Síntomas del cáncer cervicouterino:.....	10
3.2.2 Terapias convencionales para el cáncer cervicouterino: .....	10
3.2.3 Avances tecnológicos y nuevas terapias dirigidas. ....	12
3.3    Tratamientos alternativos (Nanotecnología): .....	13
3.4    Nanofibras: .....	14
3.5    Técnica de electroestirado para la elaboración de las nanofibras: .....	15
3.6    Nanofibras para aplicaciones de administración de fármacos en la mucosa vaginal:.....	16
3.7    Sistema de liberación controlada:.....	18
3.8    Ventajas y desventajas de medicamentos suministrados vaginalmente: 19	
3.9    Eudragit EPO:.....	20
3.10    Quitano: .....	21
3.11    Alcohol Polivinílico (PVA):.....	21
3.12    Cuphea Aequipetala: .....	22
3.13    Cultivo celular: .....	23
3.14    Ensayo 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5- difeniltetrazolio bromuro (MTT):	24
3.15    Microscopía Electrónica de Barrido (SEM): .....	25
3.16    Espectroscopia infrarroja (IR): .....	26
3.17    Cromatografía líquida de ultra rendimiento - espectrometría de masas (UPLC-MS): .....	27

3.18 (2,2'-azinobis (3- etilbenzotiazolina-6- sulfónico)) (ABTS): .....	29
3.19 (2,2-difenil-1-picrilhidracilo) (DPPH):.....	29
IV. Hipótesis.....	31
V. Objetivos. ....	32
VI. Materiales y métodos. ....	33
6.1 Materiales .....	33
6.2 Metodología .....	33
6.2.1 Preparación del extracto.....	33
6.2.2 Análisis metabolómico.....	33
6.2.3 Desarrollo de nanofibras poliméricas (Eudragit EPO/PVA/quitosano) por el método de electroestirado. ....	35
6.2.4 Caracterización de las propiedades fisicoquímicas de las nanofibras libres y cargadas con extractos acuosos de <i>C. aequipetala</i> .....	36
6.2.5 Propiedades antioxidantes mediante el ensayo ABTS y DPPH. ....	37
6.2.6 Ensayo 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5- difeniltetrazolio bromuro (MTT). .....	40
VII. Resultados .....	41
7.1 Microscopía Ultravioleta Visible (UV-Vis): .....	41
7.2 Análisis Metabolómico. ....	42
7.3 Caracterización de las propiedades fisicoquímicas del extracto, nanofibras libres y nanofibras cargadas con extractos acuosos de <i>C.</i> <i>aequipetala</i> . ....	45
7.3.1 Microscopía Electrónica de Barrido (SEM):.....	45
7.3.2 Análisis de Espectroscopía Infrarroja por transformada de Fourier...47	
7.3.3 Solubilidad e hinchamiento:.....	52
7.4 Propiedades antioxidantes. ....	54
7.4.1 Ensayo ABTS: .....	54

7.4.2 Ensayo DPPH: .....	56
7.5 Ensayo MTT: .....	57
VIII. Conclusión.....	61
IX. Referencias Bibliográficas .....	62



## **Índice de Tablas.**

<b>Tabla 1.</b> Gradiente empleado .....	34
<b>Tabla 2.</b> Preparación de muestras para la curva de calibración. ....	38
<b>Tabla 3.</b> Diluciones para curva de calibración. ....	39
<b>Tabla 4.</b> Análisis metabolómico de compuestos químicos organizados por categorías. ....	43
<b>Tabla 5.</b> Análisis estadístico del diámetro de las fibras libres y cargadas de extracto. ....	47
<b>Tabla 6.</b> Asignación de bandas de los polímeros. ....	50
<b>Tabla 7.</b> Asignación de bandas de fibras y extracto. ....	51
<b>Tabla 8.</b> Resultados de prueba de solubilidad en diferentes solventes. ....	53
<b>Tabla 9.</b> Resultados del porcentaje de hinchamiento en etanol. ....	54
<b>Tabla 10.</b> Análisis estadístico de los porcentajes de hinchamiento. ....	54

## Índice de Figuras.

<b>Figura 1.</b> Esquema de la síntesis, caracterización y aplicación de las nanofibras poliméricas. Imagen recuperada de Singh y col., 2021. ....	15
<b>Figura 2.</b> Representación esquemática de un proceso tradicional de electrohilado (Shahriar et al., 2019) .....	16
<b>Figura 3.</b> Planta <i>Cuphea aequipetala</i> (Cavanilles, 2013) .....	23
<b>Figura 4.</b> UV-Vis del extracto de <i>Cuphea aequipetala</i> en diferentes diluciones. ....	42
<b>Figura 5.</b> Regresión lineal del extracto acuoso de <i>Cuphea aequipetala</i> . ....	42
<b>Figura 6.</b> Micrografías SEM a) nanofibras libres, b) nanofibras cargadas con extracto de <i>C. aequipetala</i> e histograma del diámetro.....	47
<b>Figura 7.</b> Espectroscopía Infrarroja de polímeros. ....	50
<b>Figura 8.</b> Espectroscopía Infrarroja de nanofibras libres, nanofibras cargadas y extracto de <i>Cuphea aequipetala</i> . ....	51
<b>Figura 9.</b> Porcentaje de inhibición y $\mu\text{mol ET} / \text{g}$ , del extracto, fibras libres y cargadas con una cinética de tiempo de 8 min respectivamente.....	56
<b>Figura 10.</b> Porcentaje de Inhibición por método de DPPH.....	57
<b>Figura 11.</b> Ensayo MTT en Extracto de <i>Cuphea aequipetala</i> en línea celular HeLa a diferentes concentraciones y tiempos. Los (*) indican $p < 0.0001$ comparando las diferentes concentraciones con su mismo tiempo. ....	59
<b>Figura 12.</b> Ensayo MTT en Fibras libres y cargadas con extracto de <i>Cuphea aequipetala</i> en línea celular HeLa a diferentes tiempos. ....	60

## Resumen.

El cáncer cervicouterino continúa siendo una de las principales causas de muerte debido a la detección tardía y a los efectos adversos de los tratamientos convencionales como quimioterapia y radioterapia, ante esta problemática, se plantea el desarrollo de sistemas terapéuticos alternativos, entre los cuales, se destacan aquellos que involucran nanotecnología, ya que permiten una administración localizada y menos invasiva.

El objetivo principal de este proyecto fue evaluar las propiedades antioxidantes y antiproliferativas de nanofibras poliméricas electroestiradas cargadas con extractos acuosos de *Cuphea aequipetala*, una planta endémica de México con actividad biológica reconocida.

Se diseñaron nanofibras híbridas compuestas por Eudragit EPO, alcohol polivinílico y quitosano, las cuales fueron sintetizadas mediante la técnica de electroestirado. El extracto de *Cuphea aequipetala* fue liofilizado y caracterizado mediante análisis metabolómico por UPLC-MS, identificando la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides y triterpenos. Las nanofibras fueron caracterizadas mediante espectroscopía infrarroja, microscopía electrónica de barrido, su actividad antioxidante se evaluó mediante los métodos ABTS y DPPH, mientras que la actividad antiproliferativa fue determinada mediante ensayos MTT en la línea celular humana de cáncer cervicouterino HeLa.

Los resultados evidenciaron una morfología uniforme en las nanofibras y una integración efectiva del extracto, así como una alta capacidad antioxidante y una disminución significativa de la viabilidad celular en función de la concentración y el tiempo de exposición. Estos hallazgos demuestran que las nanofibras desarrolladas podrían contribuir a un sistema de liberación controlada prometedor para la administración de compuestos bioactivos con potencial terapéutico frente al cáncer cervicouterino, abriendo nuevas posibilidades para el desarrollo de tratamientos más específicos y menos invasivos.

Palabras clave: *Cuphea aequipetala*, nanofibras, compuestos bioactivos, antiproliferativa, electroestirado.

## Abstract.

Cervical cancer continues to be one of the leading causes of death due to late detection and the adverse effects of conventional treatments such as chemotherapy and radiotherapy. Given this problem, the development of alternative therapeutic systems is being proposed. Among these, those involving nanotechnology stand out, as they allow for localized and less invasive administration.

The main objective of this project was to evaluate the antioxidant and antiproliferative properties of electrospun polymeric nanofibers loaded with aqueous extracts of *Cuphea aequipetala*, a plant endemic to Mexico with recognized biological activity.

Hybrid nanofibers composed of Eudragit EPO, polyvinyl alcohol, and chitosan were designed and synthesized using the electrospinning technique. The *Cuphea aequipetala* extract was lyophilized and characterized by metabolomic analysis using UPLC-MS, identifying the presence of phenolic compounds, flavonoids, and triterpenes. The nanofibers were characterized using infrared spectroscopy and scanning electron microscopy. Their antioxidant activity was evaluated using the ABTS and DPPH methods, while their antiproliferative activity was determined using MTT assays in the human cervical cancer cell line HeLa.

The results showed a uniform morphology of the nanofibers and effective integration of the extract, as well as high antioxidant capacity and a significant decrease in cell viability depending on the concentration and exposure time. These findings demonstrate that the developed nanofibers could contribute to a promising controlled-release system for the delivery of bioactive compounds with therapeutic potential against cervical cancer, opening new possibilities for the development of more targeted and less invasive treatments.

Keywords: *Cuphea aequipetala*, nanofibers, bioactive compounds, antiproliferative, electrospun.

## I. Introducción.

El cáncer cervicouterino (CCU) representa una de las principales causas de mortalidad a nivel mundial, especialmente en países en vías de desarrollo. Los tratamientos convencionales, como cirugía, radioterapia y quimioterapia, suelen asociarse con efectos adversos significativos, incluyendo toxicidad sistémica, neurotoxicidad, infertilidad y daño hepático crónico, estas limitaciones han impulsado la búsqueda de terapias más selectivas y menos invasivas que ayuden a mejorar la calidad de vida de las pacientes (Hassanpour & Dehghani, 2017).

Las nanofibras poliméricas obtenidas mediante electrohilado han surgido como sistemas prometedores para la administración localizada y controlada de agentes terapéuticos. Este nanomaterial ofrece varias ventajas como una alta relación superficie-volumen, porosidad y la capacidad de encapsular compuestos bioactivos, permitiendo una liberación dirigida al sitio tumoral, lo que reduce potencialmente los efectos secundarios sistémicos y mejora la eficacia terapéutica (Yu et al., 2009).

Diversos estudios demuestran la eficacia de las nanofibras en la entrega de fármacos anticancerígenos, por ejemplo, nanofibras de poli (ácido láctico-co-glicólico) (PLGA) cargadas con doxorrubicina han mostrado una liberación prolongada del fármaco y una inhibición significativa del crecimiento tumoral.

La incorporación de nanopartículas con recubrimiento de PEG (poli (etilenglicol)) en las nanofibras ha permitido mejorar la estabilidad del fármaco y controlar su liberación (Razavi et al., 2023).

El uso de compuestos naturales con propiedades anticancerígenas ha ganado atención en la investigación biomédica, una de ellas es *Cuphea aequipetala*, una planta endémica de México, que ha sido objeto de estudio gracias a su actividad antioxidante y antiproliferativa. Los extractos de esta planta han demostrado la capacidad de inducir apoptosis en líneas celulares tumorales, como el melanoma murino B16F10, y reducir el peso tumoral en modelos animales (Uscanga-Palomeque et al., 2019). Estos efectos se atribuyen a su alto contenido de compuestos fenólicos y flavonoides, como la quercetina, conocidos por su actividad biológica (Waizel-Bucay et al., 2003).

La combinación de nanofibras poliméricas con extractos naturales como el de *C. aequipetala* ofrece una estrategia innovadora para el tratamiento del CCU, al encapsular el extracto en nanofibras de polímeros biocompatibles como Eudragit EPO, alcohol polivinílico (PVA) y quitosano, se busca aprovechar las propiedades terapéuticas del extracto y las ventajas que tiene un sistema de liberación controlada. Estudios previos han demostrado que nanofibras compuestas de PVA y quitosano pueden ser utilizadas como portadores de fármacos, mostrando biocompatibilidad y eficacia en la inhibición de células cancerosas (Pakravan et al., 2011).

El presente trabajo tiene como objetivo desarrollar nanofibras poliméricas cargadas con extracto de *C. aequipetala* y evaluar su efecto antiproliferativo en células HeLa de cáncer cervicouterino, se realizarán caracterizaciones físico-químicas mediante espectroscopía infrarroja (IR), microscopía electrónica de barrido (SEM), análisis metabolómico del extracto, la evaluación de su actividad antioxidante y la viabilidad celular; la información desarrollada en este trabajo servirá para proponer sistemas de encapsulación y liberación controlada, que puedan ser desarrolladas e implementadas como agentes terapéuticos como una alternativa menos invasiva y más específica para el tratamiento del CCU.

## **II. Antecedentes.**

El cáncer ha afectado a la humanidad desde mucho tiempo atrás hasta nuestros días, aunque su prevalencia se ha visto incrementada en las últimas décadas debido al aumento de esperanza de vida y la presencia de factores carcinogénicos (Faguet, 2015).

En el periodo de los años 500 y 1500 d. C., en Europa surgieron diferentes tratamientos como la extirpación y cauterización de tumores pequeños, la aplicación de pastas cáusticas con Arsenio, dietas y amuletos para tumores más extensos. A partir del año 1500 d. C. comenzaron a practicar más autopsias y el conocimiento del cáncer interno aumentó. En los últimos siglos se ha avanzado mucho en describir la enfermedad para poder demostrar su origen genético, permitir un tratamiento personalizado para el paciente y ayudar a escoger el tratamiento más adecuado (MatchTrial, 2020).

Actualmente existen diferentes tratamientos disponibles para el cáncer, todos con sus propias limitaciones y tasa de éxito dependiendo del estado de la enfermedad. Algunas prácticas generales de tratamiento del cáncer incluyen cirugía, radioterapia, terapia biológica, quimioterapia, hipertermia, terapia fotodinámica, tratamiento con láser, trasplante de células madre, donación o transfusión de hemoderivados y terapia hormonal; así mismo los trastornos genéticos causados por factores hereditarios o no hereditarios tienen un papel fundamental en el aumento del crecimiento celular (Hassanpour & Dehghani, 2017).

El CCU, es uno de los tipos más frecuentes de cáncer en el cual se encuentran células cancerosas o malignas, en los tejidos del cuello uterino (Moran García & Quintero Soto, 2012). Dependiendo del tipo y la etapa de cáncer en la que se encuentre, puede requerir más de un tipo de tratamiento, para las etapas más tempranas, se puede emplear cirugía o radiación combinada con quimioterapia. Para las etapas más avanzadas, usualmente se emplea radiación combinada con quimioterapia como tratamiento principal. La quimioterapia es la más utilizada para tratar el cáncer de cuello uterino en etapas avanzadas (American Cancer Society, 2021).

La integración de la nanotecnología en disciplinas como la ciencia de materiales, biología celular y molecular, farmacología y la medicina ha dado lugar a una transformación tecnológica de gran relevancia, la cual es una de las más influyentes en el futuro debido a sus múltiples aplicaciones que tienen gran potencial en el diagnóstico y tratamiento de diversas enfermedades (Kumar et al., 2013).

La nanomedicina representa la aplicación de la nanotecnología en áreas clave como el diagnóstico, prevención y tratamiento de enfermedades contribuyendo a una mejor comprensión de los mecanismos patofisiológicos implicados en su desarrollo y progresión, esta disciplina se divide en tres campos principales: liberación controlada de fármacos e ingeniería de tejidos, diagnóstico y terapias específicas (Duncan & Gaspar, 2011).

Los materiales y tecnologías que se han implementado para la construcción de nanosistemas de liberación de fármacos son muy diversos, los cuales se clasifican de manera general en dos grandes grupos: nanoestructuras orgánicas y nanoestructuras inorgánicas (Torchilin, 2014).

Las nanofibras han emergido como una herramienta prometedora en la nanotecnología aplicada a la liberación de fármacos, sus propiedades que poseen una alta relación superficie/volumen, pequeño diámetro de poro entre fibras, alta porosidad y gran capacidad de funcionalización superficial, las hacen especialmente adecuadas para este propósito (Dhand et al., 2017).

El electrohilado se ha convertido en una de las técnicas más utilizadas para la obtención de nanofibras cargadas con principios activos, gracias a su alta capacidad de carga, eficiencia de encapsulación, posibilidad de coadministrar múltiples agentes terapéuticos, facilidad operativa y viabilidad económica (Zamani et al., 2013).



### **III. Fundamentación teórica.**

#### **3.1 Cáncer:**

El cáncer se caracteriza por la proliferación de células anormales que se dividen, crecen y se pueden propagar sin control en cualquier parte del cuerpo, estas células forman masas de tejido (tumores o neoplasias), causando problemas en el área del cuerpo en la que se desarrollan; además, pueden propagarse a otras partes del organismo (American Cancer Society, 2024).

Las células cancerosas se distinguen de las normales de muchas maneras: son menos especializadas, ignoran las señales para detener su proliferación y para morir cuando es necesario, influyen sobre las células normales, tienen la capacidad de evadir el sistema inmune, crecen sin control y se vuelven invasivas (Hanahan & Weinberg, 2011). Las células cancerosas evaden las señales que generalmente les indican que activen su proceso de muerte regulada (apoptosis), proceso que utilizan los tejidos para deshacerse de aquellas que no son necesarias o que presentan anomalías y así poder mantener una población celular estable (National Cancer Institute, 2021).

El cáncer se considera una enfermedad prevenible, adoptando estrategias para evitar los factores de riesgo, algunos tipos de cáncer pueden ser detectados tempranamente.

El propósito de la detección temprana es identificar el tumor cuando se encuentra localizado en el órgano de origen, antes de que se disemine hacia otros órganos y detectar lesiones precancerosas (tumores benignos), un buen diagnóstico es fundamental para establecer un tratamiento adecuado y eficaz. Para un diagnóstico definitivo del cáncer, se requiere de una confirmación histopatológica, este procedimiento es realizado por un especialista en anatomía patológica, quien examina detalladamente secciones del tejido sospechoso mediante microscopía óptica, para llevar a cabo este análisis, es necesario obtener una muestra del tejido afectado, comúnmente mediante una biopsia, o bien evaluar el tejido completo tras su extirpación quirúrgica (Romero-Romero et al., 2021).

El tipo de cáncer se define por el tejido u órgano en el que este se origina, estos pueden agruparse en:

**Carcinomas:** Cáncer que se origina en células epiteliales, que recubren la superficie de algunos órganos, como la piel, el tracto gastrointestinal o las glándulas, este tipo comprende aproximadamente el 80 % de todos los tumores malignos, incluyendo aquellos que afectan órganos como pulmón, mama, colon, próstata, páncreas y estómago.

**Sarcomas:** Cáncer que se forma a partir del tejido conectivo, incluyendo los huesos, el músculo, el cartílago y el tejido adiposo, los más frecuentes son los sarcomas de los huesos (osteosarcomas).

**Leucemias:** Corresponden a neoplasias hematológicas que se desarrollan en la médula ósea, tejido encargado de producir glóbulos rojos, blancos y plaquetas que circulan en la sangre (Punte & Velasco, 2017).

Existen diversos enfoques terapéuticos para tratar el cáncer, cuya efectividad y tolerancia varían según el tipo y la etapa de la enfermedad; estos tratamientos convencionales frecuentemente conllevan efectos adversos significativos, tales como:

**Inmunoterapia:** puede ocasionar inflamación, erupciones cutáneas, hipotensión o hipertensión, cefaleas, diarrea y fatiga.

**Cirugía:** asociada con riesgo de dolor postoperatorio e infecciones.

**Radioterapia:** puede dañar tejidos sanos cercanos al área tratada y causar fatiga severa.

**Quimioterapia:** produce efectos como caída del cabello, ulceraciones bucales, náuseas y toxicidad general.

**Terapia hormonal:** puede inducir debilidad ósea, sofocos, fatiga, trastornos digestivos y cefaleas (Hassanpour & Dehghani, 2017).

Estimaciones del Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) indican que, en el año 2023 el cáncer presenta la tercera causa de muerte —antes de los 80 años— La tasa de mortalidad por cáncer en México es relativamente baja

en comparación con otros países, pero aún representa una carga significativa para la salud pública (Sung et al., 2021).

### **3.2 Cáncer cervicouterino:**

El CCU es un cáncer que se desarrolla a partir de las células localizadas en la región inferior y estrecha del útero, conocida como cuello uterino, que conecta este órgano con la vagina. Este tipo de cáncer suele evolucionar de forma progresiva, comenzando con alteraciones celulares denominadas displasia, que dan lugar a células anómalas en el tejido cervical, si estas células no son eliminadas o tratadas, pueden transformarse en malignas, multiplicarse y diseminarse a partes más profundas del cuello uterino y a las áreas que lo rodean (NCI, 2023).

La principal causa del CCU es la infección por el virus del papiloma humano (VPH), que se transmite principalmente por tener contacto sexual, se estima que aproximadamente el 70 % de los casos vinculados al VPH son consecuencia de los tipos 16 y 18 del virus (Babu, 2018). Casi todas las personas sexualmente activas contraen el VPH a los pocos meses o años de iniciar la actividad sexual, alrededor de la mitad de estas infecciones son por un tipo de VPH de alto riesgo oncológico (NCI, 2023).

La superficie del cuello uterino está formada por dos tipos de células: escamosas y glandulares (o columnares), la mayoría de los casos de CCU tienen su origen en las células escamosas. Dependiendo del tipo de célula de origen, es el nombre que lleva, se clasifican en:

**Carcinoma de células escamosas:** Representa hasta el 90 % de los casos de CCU, también conocido como carcinoma epidermoide, se forma a partir de células del ectocérvix.

**Adenocarcinoma:** Se origina en las células glandulares del endocérvix y puede presentarse en formas raras como el adenocarcinoma de células claras o mesonefrooma.

En ciertos casos, el cáncer presenta características tanto de carcinoma escamoso como de adenocarcinoma, en cuyo caso se denomina carcinoma mixto o adenoescamoso. En pocas ocasiones, el cáncer puede surgir a partir de otros tipos celulares del cuello uterino (NCI, 2023).

### **3.2.1 Síntomas del cáncer cervicouterino:**

Los síntomas varían según la etapa en que se detecta la enfermedad. En fases tempranas, cuando la afectación es microscópica, las pacientes no presentan síntomas, siendo la citología cervical la que revela la presencia del tumor. En etapas más avanzadas un síntoma común es el sangrado vaginal, que puede variar en cuanto a intensidad, es frecuente observar un incremento en el flujo vaginal y en algunos casos emitir un olor desagradable. En fases más progresivas puede aparecer dolor en la región pélvica o lumbar, sangre en la orina (hematuria), sensación constante de defecar o de orinar (tenesmo), hinchazón en las extremidades inferiores y signos relacionados con insuficiencia renal o uremia (Castelo Fernández et al., 2017).

Para determinar el estadio clínico inicial de la enfermedad, se realiza una evaluación que incluye colposcopia, examen pélvico y rectal. La colposcopia permite observar directamente posibles lesiones en el cuello uterino, las cuales deben ser biopsiadas para su análisis, aunque algunas lesiones localizadas en el canal endocervical pueden no ser visibles a simple vista, pueden detectarse mediante el examen pélvico bimanual. Es fundamental evaluar si existe compromiso de los ganglios linfáticos inguinales o supraclaviculares, para lo cual se deben explorar dichas regiones, si la paciente presenta síntomas urinarios o digestivos bajos, se recomienda realizar una cistoscopia y una rectosigmoidoscopia, sin embargo, estos estudios también suelen aplicarse de forma rutinaria en casos donde los tumores son de gran tamaño o se encuentran localmente avanzados (Castelo Fernández et al., 2017).

### **3.2.2 Terapias convencionales para el cáncer cervicouterino:**

El abordaje terapéutico tradicional del CCU incluye principalmente tres modalidades: cirugía, radioterapia y quimioterapia, cuya elección depende del

estadio clínico de la enfermedad, el estado general de la paciente y otros factores clínicos relevantes.

**El tratamiento quirúrgico:** la cirugía se emplea sobre todo en etapas tempranas de la enfermedad, presenta diversas ventajas, como la posibilidad de conservar los ovarios en mujeres premenopáusicas, permite la estadificación patológica más precisa y facilita el tratamiento de recurrencias. La intervención estándar consiste en la colpohisterectomía total ampliada o histerectomía radical, acompañada de linfadenectomía pélvica, la cual puede realizarse mediante técnicas abiertas (vía abdominal convencional) o mediante procedimientos mínimamente invasivos como laparoscopia, cirugía robótica o la vía vaginal (Castaño & Perrotta, 2017).

**Radioterapia:** a pesar de los efectos secundarios, continúa siendo un pilar esencial en el tratamiento de aproximadamente la mitad de los casos oncológicos, este tratamiento emplea radiación ionizante de alta energía como los rayos X para destruir células malignas.

Los tipos más comunes que se usan con más frecuencia incluyen:

**Radioterapia externa (ERT):** aplica radiación desde una fuente externa al cuerpo, con alta precisión en la zona tumoral, el tratamiento es similar al procedimiento de una radiografía diagnóstica, pero la dosis aplicada de radiación es más alta ya que busca destruir tejido tumoral de forma localizada y controlada, suele utilizarse en combinación con quimioterapia (quimiorradiación) para mejorar su eficacia, también es una alternativa para pacientes no aptas para cirugía (Rosen, 2020).

**Braquiterapia:** consiste en colocar fuentes radiactivas directamente en el interior o cerca del cuello uterino, su alcance es limitado a unos pocos milímetros, lo que minimiza el daño a tejidos sanos cercanos, se combina frecuentemente con la radioterapia externa en el tratamiento curativo de estadios localmente avanzados y en casos específicos y tempranos, puede emplearse como tratamiento exclusivo (Baskar et al., 2012).

**Quimioterapia:** Utiliza agentes citotóxicos que atacan preferentemente células con alta tasa de replicación, como las tumorales, sin embargo, también afectan

células sanas del cuerpo con alta regeneración como las del cabello, mucosas y médula ósea, lo que genera una considerable toxicidad sistémica (Lee et al., 2014). Entre los fármacos más utilizados contra el CCU destacan el cisplatino, carboplatino, topotecán y paclitaxel (Taxol) que proviene de una fuente natural, generalmente administrados por vía intravenosa. La quimioterapia se puede administrar en un consultorio médico, en un centro de infusión, o en un hospital y puede combinarse con radioterapia (quimiorradiación) o bien, utilizarse sola en casos metastásicos o recurrentes (Rosen, 2020).

Las complicaciones a largo plazo con los tratamientos tradicionales pueden generar efectos secundarios persistentes como cardiotoxicidad, neurotoxicidad, insuficiencia renal, hepatotoxicidad, infertilidad y fatiga crónica (Brigden & McKenzie, 2000, Ewertz et al., 2015).

### **3.2.3 Avances tecnológicos y nuevas terapias dirigidas.**

Las limitaciones de los tratamientos convencionales como la escasa selectividad de los fármacos, han incentivado la investigación en terapias más precisas y menos invasivas, se están desarrollando estrategias que permiten una liberación controlada y dirigida de los fármacos hacia los tejidos tumorales, minimizando el daño colateral (Chen et al., 2016).

Entre estas nuevas alternativas terapéuticas destacan:

**Terapia fotodinámica (PDT):** emplea fármacos fotosensibilizantes que, al activarse con una luz con longitud de onda específica, generan especies reactivas de oxígeno de manera controlada y localizada, lo que reduce el daño a tejidos sanos y minimiza efectos secundarios sistémicos.

**Terapia fototérmica (PTT):** usa agentes fototérmicos que, al ser estimulados con luz, producen calor localizado capaz de inducir la apoptosis o necrosis en las células cancerosas.

**Terapia génica:** modifica genéticamente las células tumorales o estimula células inmunes para atacar el tumor, esta estrategia incluye técnicas como la edición génica con CRISPR o la administración de ARN mensajero terapéutico.

**Nanomedicina:** la incorporación de nanopartículas como vehículos de liberación de fármacos permite transportar medicamentos directamente a las células

tumorales, estas nanopartículas pueden estar funcionalizadas con ligandos específicos que reconocen receptores sobreexpresados en el tumor y así poder aumentar la selectividad del tratamiento (Bidram et al., 2019).

### **3.3 Tratamientos alternativos (Nanotecnología):**

Actualmente la nanotecnología, definida como la habilidad para observar, manipular y controlar la materia a escala nanométrica, se ha incorporado en múltiples áreas, incluyendo la medicina, debido a que las nanopartículas, por su diminuto tamaño, pueden ingresar en casi todos los espacios del cuerpo humano, incluso dentro de las células y sus estructuras internas, lo cual abre la puerta a diversas aplicaciones dentro del campo conocido como nanomedicina (Murthy, 2007).

En el área de la salud, la nanotecnología se ha utilizado principalmente para mejorar la eficacia de los sistemas inteligentes de liberación de medicamentos, buscando aumentar su acción terapéutica y disminuir los efectos secundarios no deseados. El desarrollo de nuevos fármacos se enfoca en lograr una administración precisa y controlada, lo que requiere considerar factores como la compatibilidad entre los materiales, las propiedades del fármaco, la vía de aplicación, el mecanismo de liberación y el tipo de sistema acarreador (Safari & Zarnegar, 2014).

En los últimos años, se han investigado diferentes sistemas de liberación controlada, como microesferas, micelas, nanopartículas (tanto nanoesferas como nanocápsulas), hidrogeles y dendrímeros, estos sistemas han mostrado ser efectivos para mejorar la capacidad de los medicamentos de dirigirse específicamente al tejido afectado, disminuir la toxicidad sistémica, mejorar su comportamiento dentro del organismo (farmacocinética y farmacodinámica) y protegerlos de la degradación antes de llegar a su destino (Safari & Zarnegar, 2014).

Uno de los métodos más utilizados para fabricar nanofibras cargadas con medicamentos es el electrohilado, el cual permite obtener fibras a escala nanométrica cargadas con principios activos para su uso en tratamientos médicos (Zamani et al., 2013).

### **3.4 Nanofibras:**

Las nanofibras son estructuras cuya dimensión transversal se encuentra en la escala nanométrica, se caracterizan por ser fibras sólidas con diámetros menores a 500 nanómetros, mientras que su longitud es considerablemente mayor que su grosor. El diámetro específico de una nanofibra depende del polímero usado y del método de su fabricación, pudiendo variar desde unos pocos nanómetros hasta varios micrómetros (Greiner et al., 2006).

Existen diversos tipos de nanofibras, entre ellas las poliméricas, que pueden elaborarse a partir de polímeros tanto naturales como sintéticos, algunos ejemplos incluyen la seda, ácido poliláctico, poliuretanos, celulosa, ácido hialurónico y colágeno (Uson, 2023).

Los polímeros naturales destacan por su alta biocompatibilidad y algunos poseen funciones antibacterianas intrínsecas y facilidad de funcionalización clínica (Hu et al., 2014). Son biodegradables, biocompatibles, flexibles y presentan una gran relación superficial área/volumen, estas características les permiten formar andamios que se comportan como una matriz extracelular, con una porosidad relativa lo que facilita el paso de nutrientes, iones y según el tipo de material pueden inducir la proliferación y migración celular (Singh et al., 2021).

Las nanofibras poliméricas pueden sintetizarse fácilmente mediante la técnica de electrohilado, dependiendo del método en que se encapsule un fármaco en estas fibras, pueden liberar el medicamento en respuesta a distintos estímulos, como cambios de temperatura, variaciones de pH o exposición a campos eléctricos, además gracias a su flexibilidad y facilidad de manipulación, estas nanofibras son excelentes candidatas para actuar como sistemas de liberación controlada de fármacos, ya sea implantados en el cuerpo, administrados por vía oral o aplicados directamente sobre la piel (figura 1) (Singh et al., 2021).



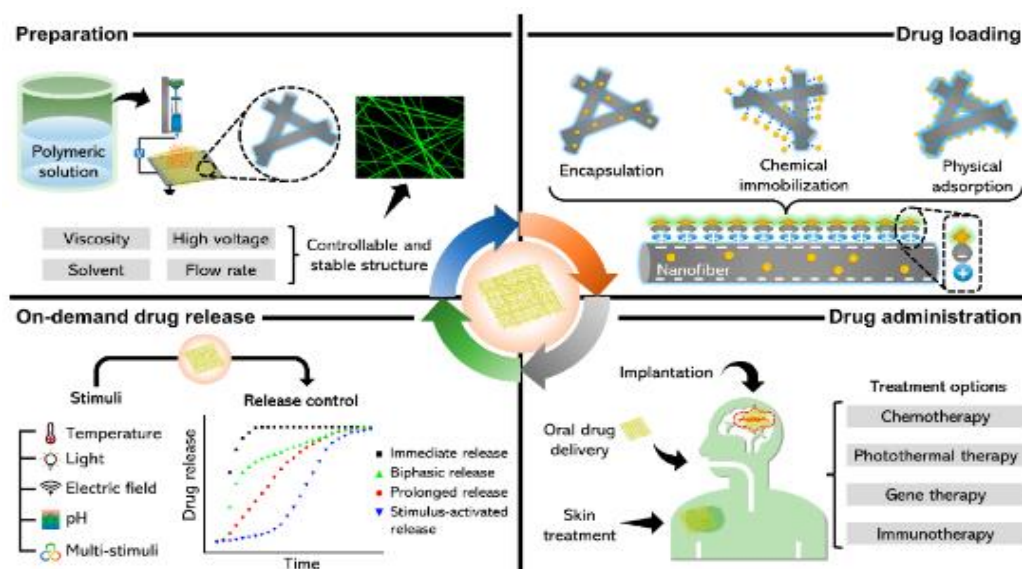


Figura 1. Esquema de la síntesis, caracterización y aplicación de las nanofibras poliméricas. Imagen recuperada de Singh y col., 2021.

### 3.5 Técnica de electroestirado para la elaboración de las nanofibras:

La técnica de electroestirado tiene sus orígenes en los primeros estudios sobre electrospray, realizados por Rayleigh en 1897 y fue más detallada por Zeleny en 1914. No obstante, fue Formhals quien logró patentar el método en 1934, desarrollando un aparato electrostático de electroestirado, que aplicaba un campo eléctrico a una solución polimérica mediante un electrodo de carga negativa, esto provocaba la formación de fibras delgadas, que eran atraídas hacia un electrodo de carga positiva en movimiento, así las fibras eran recolectadas en una cinta segmentada y posteriormente retiradas con ayuda de un cilindro (Uson, 2023).

Las fibras obtenidas mediante electroestirado se caracterizan por tener poros muy pequeños y una gran área superficial, lo que las hace útiles en diversos campos como la nanocatálisis, ingeniería de tejidos, ropa protectora, filtración, aplicaciones biomédicas y farmacéuticas, óptica, dispositivos electrónicos, cuidado de la salud, biotecnología, defensa y medio ambiente (Uson, 2023).

El sistema de electroestirado está compuesto por tres elementos principales: una bomba con jeringa, una fuente de alto voltaje, y un colector (Figura 2). La jeringa que contiene la solución polimérica, está equipada con una aguja conductora, en la punta de esta aguja se forma una gota semiesférica debido a la tensión

superficial, se aplica un campo eléctrico alto (entre 1 y 30 kV) entre la aguja y el colector, si el voltaje supera un cierto límite, la repulsión entre cargas eléctricas vence la tensión superficial, desestabilizando la gota esférica formando un chorro cónico cargado de la solución, es expulsado desde el vértice dando una estructura conocida como “Cono de Taylor”, este se estira al avanzar, mientras el solvente se evapora, dando lugar a fibras delgadas y largas. El proceso puede observarse con cámaras de alta velocidad, y permite fabricar fibras con formas y tamaños controlados (Shahriar et al., 2019).

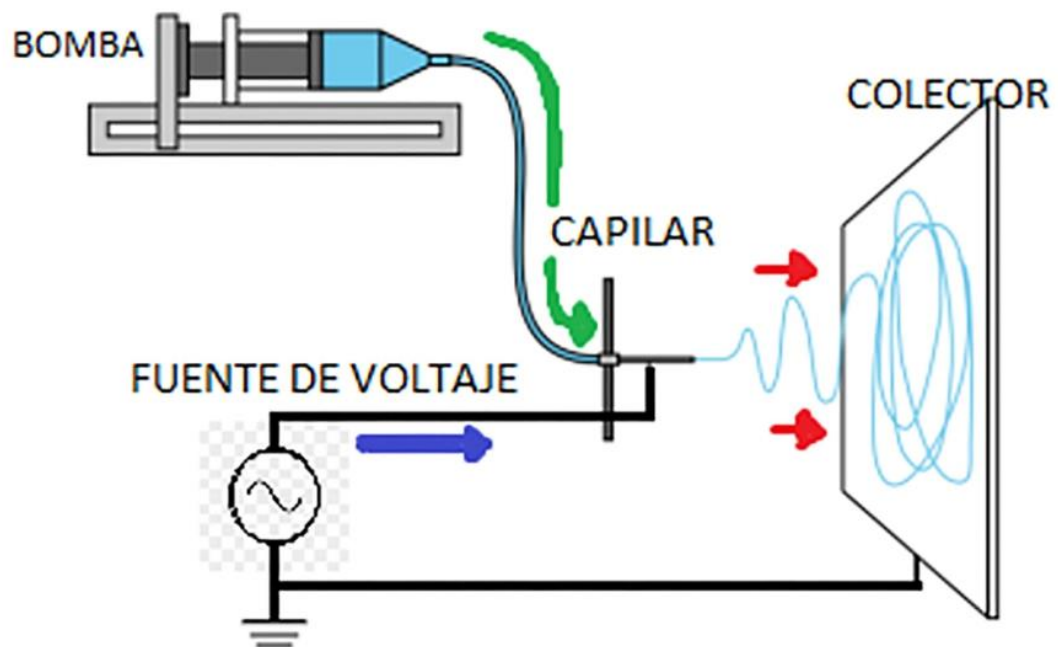


Figura 2. Representación esquemática de un proceso tradicional de electrohilado (Shahriar et al., 2019)

### 3.6 Nanofibras para aplicaciones de administración de fármacos en la mucosa vaginal:

La mucoadhesión es la capacidad de un material para adherirse a una superficie mucosa, este fenómeno resulta clave para aumentar el tiempo que una formulación farmacéutica permanece en contacto con el sitio de acción, lo que se traduce en una mejor absorción del fármaco, mayor eficacia terapéutica y una posible reducción de la dosis necesaria (Mašek et al., 2020). A diferencia de las formulaciones convencionales, las formulaciones mucoadhesivas pueden emplearse para la administración de biomoléculas terapéuticas como las

proteínas, péptidos, anticuerpos y ácidos nucleicos a través de una variedad de vías de administración, como oral, ocular, nasal y vaginal.

Existen diversas teorías que explican la mucoadhesión, clasificadas en dos grupos principales:

**Físicas:** como las teorías del humedecimiento, la difusión y la mecánica.

**Químicas:** que incluyen las teorías de tipo electrónico, cohesivo y de adsorción.

La adhesión entre un polímero y una mucosa sigue un mecanismo complejo que se encuentra modulado por varios factores; uno de ellos es el peso molecular del polímero: en el caso de polímeros lineales, un mayor peso molecular (mayor a 100,000 Da) se relaciona con una mayor capacidad bioadhesiva. En cambio, los polímeros con estructuras ramificadas o no lineales pueden comportarse de forma distinta debido a su conformación (Mallandrich, 2017).

El uso de nanopartículas con propiedades mucoadhesivas permite formular medicamentos que se adhieren eficientemente a la mucosa. Estas formulaciones pueden también incorporar tecnologías de penetración de moco o combinar ambas estrategias (Mašek et al., 2020).

Las nanofibras elaboradas con polímeros mucoadhesivos como el quitosano, acrilatos, gomas naturales, alginato de sodio, agarosa, entre otros, representan una alternativa emergente en la administración de fármacos vía mucosa. Debido a su gran área superficial, porosidad y topología superficial específica, estas estructuras favorecen un contacto íntimo con la mucosa y permiten una alta concentración local del principio activo. Asimismo, su capacidad para aumentar la solubilidad de los fármacos las convierte en una plataforma prometedora para la administración transmucosa (Salamat-Miller et al., 2005).

Las nanofibras mucoadhesivas pueden permanecer adheridas a la mucosa vaginal y controlar la liberación del principio activo, se han desarrollado numerosos sistemas mucoadhesivos de administración vaginal en forma de comprimidos matriciales, discos vaginales, geles térmicos, hidrogeles, geles termosensitivos, suspensiones microparticulares, etc. (Mallandrich, 2017).

La posibilidad de formar nanofibras mucoadhesivas depende de varias características del polímero utilizado, como su peso molecular, flexibilidad de la cadena, la habilidad para formar enlaces de hidrógeno, densidad de reticulación,

carga iónica, grado de ionización, concentración y el grado de hidratación o hinchamiento del polímero (Salamat-Miller et al., 2005).

El pH vaginal puede fluctuar debido a diversos factores como el semen (pH 7.2–8.0), infecciones, el ciclo menstrual, y el estado hormonal, los cuales modifican también el aspecto del fluido vaginal y sus propiedades antimicrobianas, así como existen otros factores como las relaciones sexuales, la medicación y el estado de inmunidad influyen en el ecosistema vaginal (Hussain & Ahsan, 2005). Por otro lado, es fundamental considerar las variaciones fisiológicas del tracto vaginal al diseñar estas formulaciones, debido a que puede influir en el flujo, la retención, la cinética de administración, la bioactividad de las formulaciones vaginales, la alteración en la absorción y / o el metabolismo del fármaco, estos parámetros pueden alterar la eficacia de los medicamentos suministrados a través de varios mecanismos (Ramsey et al., 2002).

Además, los niveles de estrógeno inducen la producción del líquido vaginal, lo que conduce a la lubricación de la mucosa y en etapas como la prepubertad o la posmenopausia, donde los niveles de estrógenos disminuyen, la lubricación vaginal se reduce (Davenport et al., 2017). La presencia de enzimas vaginales también puede influir en el ambiente vaginal y sobre la eficacia del tratamiento (Acartürk et al., 2001)

### **3.7 Sistema de liberación controlada:**

A lo largo del tiempo, los sistemas de liberación de fármacos han sido diseñados principalmente para mejorar la experiencia del paciente, optimizar la biodisponibilidad, modificar el perfil de liberación del medicamento o dar lugar a nuevas presentaciones comerciales, sin embargo, la nanomedicina propone un enfoque más avanzado para desarrollar sistemas que puedan reconocer y dirigirse a un lugar específico dentro del cuerpo, como un órgano, una célula, un compartimento celular (como el núcleo o el citoplasma) o incluso un organelo particular (Maity & Stepensky, 2015). Dirigirse a él y poder entregar el fármaco selectivamente en el sitio deseado y hacerlo de manera controlada, respondiendo a estímulos internos (como cambios en el pH, la presencia de enzimas o variaciones en el potencial redox) o externos (como luz, temperatura,

o campos magnéticos) (Simona et al., 2013). Además, estos sistemas podrían transportar múltiples agentes terapéuticos al mismo tiempo, como fármacos y biomoléculas (por ejemplo, proteínas, péptidos o ácidos nucleicos).

Las versiones más avanzadas de estos sistemas, conocidas como plataformas multifuncionales, no solo permitirán la liberación del fármaco, sino que también incluirán elementos que faciliten su rastreo mediante técnicas de imagen, permitiendo al mismo tiempo el diagnóstico y la evaluación del avance de una enfermedad (Simona et al., 2013; Kemp et al., 2016; Mura & Couvreur, 2012).

En el caso de las nanofibras, la liberación del medicamento se realiza localmente, en el lugar donde se implantan, lo cual garantiza que el fármaco actúe justo en el sitio objetivo, para lograr una liberación controlada o programada, se pueden utilizar nanofibras núcleo-capa, una estructura de múltiples capas que permite cargar el fármaco en diferentes zonas y controlar su liberación de manera más precisa (Weng & Xie, 2015).

### **3.8 Ventajas y desventajas de medicamentos suministrados vaginalmente:**

Aunque la aplicación tópica de medicamentos en la vagina es común en la práctica clínica, su uso como vía de administración sistémica aún se considera relativamente reciente. Sin embargo, la experiencia acumulada con diversos fármacos ha demostrado que la vagina puede ser una vía altamente eficaz para la administración de medicamentos, especialmente en el ámbito de la salud femenina, esta vía presenta múltiples ventajas: permite utilizar dosis más bajas, mantener niveles estables del fármaco en el organismo y reducir la frecuencia de administración en comparación con la vía oral. Además, la absorción vaginal no se ve influida por alteraciones gastrointestinales, evita el metabolismo de primer paso hepático y ofrece una opción de uso discreta para las pacientes, el contar con un conocimiento adecuado de la anatomía, fisiología, histología e inmunología de la vagina puede ayudar a los médicos a brindar confianza a sus pacientes sobre la seguridad y eficacia de esta vía. A medida que los profesionales de la salud adquieren mayor experiencia y comprensión sobre el

tema, es probable que aumente la aceptación y el uso de la administración vaginal como alternativa terapéutica eficaz (Alexander et al., 2004).

Las presentaciones vaginales convencionales presentan ciertas limitaciones, como un corto tiempo de permanencia en el sitio de acción y molestias durante su uso, estos inconvenientes han sido superados en parte por el desarrollo de sistemas modernos basados en polímeros bioadhesivos; las películas vaginales representan una alternativa sólida que se disuelve rápidamente al contacto con los fluidos vaginales, reduciendo así el riesgo de fugas o incomodidades.

El diseño de estas películas requiere procesos de fabricación y caracterización altamente controlados para garantizar su eficacia, aunque los estudios sobre la aceptación por parte de las usuarias aún son limitados, los resultados disponibles indican una buena receptividad, por su potencial para ofrecer tanto efectos terapéuticos como preventivos, las películas vaginales deben ser consideradas en el desarrollo de futuras estrategias de administración de fármacos por vía vaginal (Alexander et al., 2004).

### **3.9 Eudragit EPO:**

El término Eudragit hace referencia a una familia de polimetacrilatos compuestos por diferentes proporciones de metacrilato de imetilaminoetilo, ácidos metacrílicos y ésteres de ácido metacrílico, estos polímeros son utilizados comúnmente como recubrimientos entéricos en formulaciones farmacéuticas, por su resistencia a la acidez del estómago, pero se disuelven en medios con pH elevado, como el del intestino. Esta propiedad permite proteger los fármacos de la degradación gástrica y garantizar su liberación eficiente en el ambiente intestinal, gracias a estas características, el polímero Eudragit se emplea frecuentemente como recubrimiento entérico para la administración oral de bacterias, brindando ventajas como la liberación dependiente del pH, mejora en la solubilidad y biodisponibilidad, liberación controlada, y direccionamiento específico al colon (Li et al., 2020).

Dentro de esta familia, Eudragit® E PO (EPO) es un polímero catiónico lineal desarrollado por Evonik Industries AG como excipiente farmacéutico, este terpolímero está formado por metacrilato de N,N-dimetilaminoetilo (DMAEMA),

metacrilato de metilo y metacrilato de butilo, esta composición lo hace soluble en agua solo en medios ácidos, lo cual es útil para el enmascaramiento de sabor y olor, ya que permanece insoluble en la boca, pero se disuelve rápidamente en el ambiente ácido del estómago, liberando el fármaco recubierto, además, la naturaleza catiónica de EPO le permite formar complejos interpolielectrolitos con polímeros aniónicos, lo que ha sido aprovechado en el diseño de formas farmacéuticas sólidas para administración gastrointestinal, debido a que EPO es un excipiente aprobado y contiene unidades DMAEMA, también se abre la posibilidad de realizar modificaciones químicas para mejorar sus propiedades, como la mucoadhesión (Porfiryeva et al., 2019).

### **3.10 Quitosano:**

Es un polisacárido natural que se obtiene mediante la desacetilación de la quitina, la cual encontramos de forma abundante en los exoesqueletos de crustáceos como camarones, cangrejos y langostas, este biopolímero ha ganado gran atención debido a su excelente biocompatibilidad, biodegradabilidad y sus destacadas propiedades antimicrobianas y mucoadhesivas, que lo hacen ideal para interactuar con tejidos biológicos, estas características lo posicionan como un candidato prometedor para el desarrollo de apósitos inteligentes, sistemas controlados de liberación de fármacos, y andamios tridimensionales destinados a la ingeniería de tejidos y aplicaciones médicas regenerativas, además, su funcionalización química es relativamente sencilla, lo que permite modificar sus propiedades para adaptarse a diferentes entornos fisiológicos o requerimientos terapéuticos (Aranaz et al., 2021). También se ha explorado su uso en formulaciones nasales, oculares y vaginales, gracias a su capacidad para prolongar el tiempo de residencia del fármaco en la mucosa.

### **3.11 Alcohol Polivinílico (PVA):**

El PVA es un polímero sintético hidrosoluble que destaca por su alta biocompatibilidad, baja toxicidad, estabilidad química, transparencia óptica y buenas propiedades mecánicas, lo cual facilita su manipulación en múltiples procesos de fabricación. Estas propiedades lo han convertido en un material

versátil para diversas aplicaciones biomédicas, especialmente en la fabricación de nanofibras mediante electroestirado (electrospinning). Esta técnica es ideal para sistemas de liberación controlada de fármacos, regeneración tisular y curación de heridas. El PVA también puede ser combinado con otros polímeros naturales o sintéticos, como el quitosano o la gelatina, para mejorar aún más su funcionalidad, por ejemplo, ajustando su velocidad de degradación o aumentando su afinidad con células específicas, por otro lado, su estructura permite una fácil incorporación de agentes terapéuticos, como antibióticos o factores de crecimiento (Park et al., 2010).

### **3.12 Cuphea Aequipetala:**

La planta conocida como “hierba del cáncer”, científicamente llamada *Cuphea aequipetala* (*C. aequipetala*), es un arbusto nativo de México que también ha sido introducido en otras regiones de Sudamérica y en la India, esta especie suele desarrollarse en ambientes húmedos, particularmente a orillas de ríos, zonas pantanosas o incluso en áreas boscosas, siempre que las condiciones ambientales lo permitan (Cavanilles, 2013).

En estados como Michoacán y Morelos, esta planta es empleada tradicionalmente en el tratamiento del cáncer, su uso se destaca en diversos estados del país para atender dolencias asociadas con procesos inflamatorios o infecciosos, por ejemplo, se utiliza para tratar heridas ya sean infectadas, abiertas o con llagas, contusiones, hinchazones en general (ya sean internas, como del estómago o externas en la piel), así como tumores o afecciones cutáneas como granos, infecciones, llagas o irritaciones en bebés. También es común su uso por vía oral en forma de infusión elaborada con la parte aérea de la planta, la cual se administra para tratar problemas digestivos como diarrea, disentería, ardor estomacal, infecciones gástricas y enfermedades hepáticas, comúnmente se trituran y remojan tanto hojas como tallos tomando la infusión, deteniendo así las diarreas en niños e incluso previniendo abortos (Cavanilles, 2013).

Este arbusto puede medir entre cincuenta centímetros y un metro de altura, presenta un crecimiento rastrero, extendiéndose más horizontalmente que



verticalmente, sus tallos son vellosos y presentan tonalidades que varían entre violeta y rojo, las hojas crecen en pares opuestos, con forma lanceolada y pueden alcanzar hasta seis centímetros de longitud, su flor es de gran tamaño, se presentan de manera solitaria y poseen colores llamativos que van del rosa al púrpura, su forma distintiva, parecida a una trompeta, es una característica notable (ver figura 3).

En tiempos recientes, la hierba del cáncer ha ganado reconocimiento popular como auxiliar para aliviar dolores relacionados con distintos tipos de cáncer (de ahí su nombre), también se utiliza de forma tópica para sanar lesiones cutáneas o mucosas, tales como cortaduras, raspaduras o inflamaciones, aportando alivio del dolor, en muchas ocasiones su eficacia se potencia al combinarla con otras plantas medicinales como es la sábila (Aguilar-Rodríguez et al., 2012).



Figura 3. Planta *Cuphea aequipetala* (Cavanilles, 2013)

### 3.13 Cultivo celular:

Los cultivos celulares consisten en el crecimiento de células en condiciones in vitro, a partir de células extraídas de organismos pluricelulares. Para garantizar su validez y evitar problemas como la contaminación cruzada, es esencial que las líneas o cepas celulares empleadas cuenten con una procedencia claramente documentada (Beltrán & González, 2016). Estas técnicas son fundamentales en la investigación científica, ya que permiten analizar procesos celulares específicos, además de tener aplicaciones en biotecnología, como la producción de compuestos industriales o la ingeniería de tejidos (Sagretín, n.d.).

El manejo seguro de cultivos celulares exige una evaluación adecuada de riesgos, una organización cuidadosa del trabajo y la implementación de buenas prácticas de laboratorio, para evitar la transmisión involuntaria de agentes infecciosos entre cultivos o la contaminación cruzada, se debe trabajar con una sola línea celular a la vez y aplicar técnicas apropiadas de descontaminación, especialmente al manipular diferentes tipos celulares (Beltrán & González, 2016).

El aislamiento de células de un tipo específico dentro de un tejido el cual habitualmente contiene múltiples tipos celulares comienza con la disgregación de la matriz extracelular, que mantiene unidas a las células, este proceso se lleva a cabo mediante el uso de enzimas proteolíticas como la tripsina o las colagenasas, que degradan las proteínas de la matriz. Además, se emplean agentes quelantes como el EDTA (ácido etilendiaminotetraacético), que secuestra iones calcio, esenciales para la adhesión celular, mediante una agitación controlada, se obtiene una suspensión celular con todas las células presentes en el tejido original (Sagretín, n.d.).

Para llevar un control del tiempo de duplicación celular, es indispensable realizar el conteo celular y efectuar una cuantificación previa a los experimentos. Este monitoreo permite verificar no solo la proliferación, sino también la viabilidad, citotoxicidad y otros indicadores del estado fisiológico de las células. La técnica de análisis adecuada dependerá del tipo de células, el objetivo del estudio y los requisitos experimentales. Contar con una estimación precisa del número de células cultivadas es esencial antes de realizar subcultivos, transfecciones, estudios genéticos, criopreservación u otras manipulaciones posteriores (Beltrán & González, 2016).

### **3.14      Ensayo 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5- difeniltetrazolio bromuro (MTT):**

Los ensayos colorimétricos, utilizados para evaluar la actividad metabólica celular, resultan especialmente eficaces para medir parámetros como la proliferación celular, la viabilidad y la citotoxicidad.

Un ejemplo clásico es el ensayo basado en la reducción de sales de tetrazolio, como el MTT, que se transforma en compuestos formazán de color violeta únicamente en células metabólicamente activas, ya que este proceso requiere la actividad enzimática de células vivas.

Otro indicador fiable de metabolismo celular es la presencia de ATP, cuya cuantificación también puede realizarse mediante el ensayo de luciferasa de luciérnaga, en este caso, el ATP generado por las células en división se utiliza para oxidar la D-luciferina, produciendo una señal de bioluminiscencia que puede medirse con equipos específicos (Gonçalves & Sobral, 2020).

Los kits comerciales de ensayo MTT ofrecen una herramienta práctica, sensible y cuantitativa para estimar el número de células viables en un cultivo celular determinado, este ensayo se basa en la conversión del MTT, una sal de tetrazolio de color amarillo pálido, en formazán, un compuesto insoluble y de color violeta intenso, como resultado de procesos redox intracelulares, la reacción de reducción está mediada por cofactores nucleótidos de piridina como NADH y NADPH y ocurre exclusivamente en células vivas, lo cual garantiza la especificidad del método. Tras la formación de cristales de formazán, estos se disuelven utilizando un solvente adecuado, permitiendo su medición espectrofotométrica, comúnmente entre 550 y 620 nanómetros (nm), la intensidad del color obtenido es directamente proporcional a la cantidad de células vivas en el cultivo, además, este tipo de ensayo se adapta fácilmente a formatos automatizados para realizar análisis de alta productividad (de Castro de Pardo, 2006).

### **3.15 Microscopía Electrónica de Barrido (SEM):**

Desde el desarrollo de los microscopios de electrones en la década de 1930, el SEM se ha consolidado como una técnica esencial en diversos ámbitos científicos y tecnológicos, que incluyen desde la ciencia de materiales y la ingeniería forense hasta la industria manufacturera y las ciencias biológicas (Ipohorski & Bozzano, 2013).

A diferencia de la microscopía óptica, el SEM utiliza un haz de electrones acelerados, cuyo poder de resolución depende de su energía cinética adquirida

al ser acelerados por un campo eléctrico. Esta diferencia fundamental en la naturaleza del haz (fotones vs electrones) permite al SEM superar ampliamente la resolución limitada por la difracción en microscopía de luz. Esta característica le otorga una alta resolución y una gran profundidad de campo, lo que permite visualizar simultáneamente extensas áreas de la muestra con gran nitidez, para que las muestras puedan ser analizadas por SEM, deben ser conductoras de electricidad, en caso de que no lo sean, se recubren con una capa fina de materiales conductores, como carbón o metales (por ejemplo, oro o platino), para evitar la acumulación de carga superficial. Durante el análisis, un haz de energía cinética de electrones acelerados barre la superficie de la muestra, la interacción entre los electrones del haz y los átomos de la muestra genera diferentes tipos de señales, las cuales son captadas por detectores especializados, estas señales permiten construir imágenes tridimensionales digitales con niveles de detalle que pueden alcanzar una resolución entre 4 y 20 nanómetros, según el modelo y configuración del microscopio (Castroviejo Fernández, 2020).

El SEM es especialmente útil cuando se requiere obtener información morfológica y topográfica de la superficie o de capas superficiales de un material. Por ello, se ha convertido en una de las herramientas más indispensables en prácticamente todas las disciplinas científicas e industriales, como la microelectrónica, la nanotecnología, la biomedicina, la arqueología, entre muchas otras (Ipohorski & Bozzano, 2013).

### **3.16 Espectroscopia infrarroja (IR):**

La espectroscopia infrarroja es una técnica analítica que permite estudiar la estructura molecular de un compuesto a través de la interacción de la radiación infrarroja con sus enlaces químicos. Cuando una molécula es irradiada con luz infrarroja, parte de esta energía es absorbida y provoca movimientos vibracionales en sus enlaces, como estiramientos o flexiones, cada tipo de enlace absorbe la energía en frecuencias específicas, lo que genera un espectro característico que puede utilizarse para identificar la presencia de ciertos grupos funcionales o estructuras moleculares, la región infrarroja del espectro electromagnético se divide en tres zonas: la región cercana (de 14,000 a 4,000

$\text{cm}^{-1}$ ), la región media (de 4,000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ ), que es la más utilizada en análisis químicos, y la región lejana (de 400 a 10  $\text{cm}^{-1}$ ), el espectro obtenido se interpreta en dos grandes áreas: la región de los grupos funcionales (por encima de 1400  $\text{cm}^{-1}$ ) y la región de huella digital (por debajo de 1400  $\text{cm}^{-1}$ ), que es altamente específica para cada compuesto. La posición y forma de los picos observados en el espectro dependen de factores como la fuerza del enlace y la masa de los átomos implicados, los enlaces más fuertes y los átomos más ligeros vibran a frecuencias más altas, lo que permite identificar compuestos con gran precisión y sin necesidad de destruir la muestra (Ramesh, 2019). La espectroscopia IR se ha convertido en una herramienta muy versátil con aplicaciones en múltiples campos, como la química y la nanotecnología, permite caracterizar materiales como nanopartículas y polímeros funcionalizados, en medicina, se utiliza para el análisis de biomoléculas y el diagnóstico precoz de enfermedades, incluyendo algunos tipos de cáncer, mediante métodos avanzados como la espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), detectando alteraciones bioquímicas tempranas en tejidos antes de que sean visibles, identificando biomarcadores espectrales específicos asociados a procesos tumorales inflamatorios o degenerativos y ayudando a diferenciar entre tejido normal, displásico y tumoral. También se aplica en el control de calidad de productos en la industria alimentaria, así como en estudios ambientales y agrícolas para evaluar suelos, aguas y contaminantes, entre sus principales ventajas se encuentran su rapidez, precisión, no destructividad y la posibilidad de analizar muestras en estado sólido, líquido o gaseoso, gracias a su especificidad molecular, la espectroscopía infrarroja es una técnica indispensable en laboratorios de investigación, desarrollo e innovación tecnológica. (El-Azazy et al., 2023).

### **3.17 Cromatografía líquida de ultra rendimiento - espectrometría de masas (UPLC-MS):**

La cromatografía líquida de ultra rendimiento acoplada a la espectrometría de masas (UPLC-MS, por sus siglas en inglés) es una técnica analítica avanzada utilizada para la separación, identificación y cuantificación de compuestos

químicos, especialmente en mezclas complejas como extractos vegetales, biofluidos o matrices ambientales. Esta técnica combina dos principios fundamentales:

**Cromatografía líquida de ultra rendimiento (UPLC):** es una técnica de separación avanzada derivada de la cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC), que permite analizar mezclas complejas con mayor resolución, sensibilidad y en tiempos significativamente más cortos. Esto se logra mediante el uso de columnas empacadas con partículas de fase estacionaria de tamaño reducido (menores de 2  $\mu\text{m}$ ) y sistemas capaces de operar a altas presiones, lo cual mejora la eficiencia de separación de los compuestos presentes en una muestra.

**Espectrometría de masas (MS):** es una técnica analítica que permite detectar, identificar y cuantificar moléculas con base en la relación masa/carga ( $m/z$ ) de sus iones. En este proceso, los analitos son ionizados, separados según su  $m/z$  en un analizador de masas, y posteriormente detectados.

El acoplamiento de UPLC con MS (UPLC-MS) proporciona una herramienta poderosa para el análisis cualitativo y cuantitativo de compuestos orgánicos e inorgánicos, y es ampliamente utilizada en áreas como la metabolómica, farmacología, toxicología y análisis de productos naturales. Es una de las herramientas analíticas más utilizadas en estudios de fenotipado metabólico, esta técnica destaca por ofrecer alta capacidad de separación cromatográfica, excelente resolución en la detección de masas y una sensibilidad elevada en la identificación de compuestos, permite modos flexibles de adquisición de datos, lo que facilita la identificación precisa de metabolitos y asegura la obtención de resultados reproducibles, incluso al analizar grandes volúmenes de muestras, gracias a estas características, la UPLC-MS es adecuada tanto para estudios de metabolómica a pequeña escala como para investigaciones masivas y de alto rendimiento (Mohammad & Khan, 2014, Dunn & Lewis, 2018, Leyva Morales et al., 2024).

### **3.18 (2,2'-azinobis (3- etilbenzotiazolina-6- sulfónico)) (ABTS):**

La formación del radical  $\text{ABTS}^+$  constituye la base de un método espectrofotométrico ampliamente utilizado para evaluar la actividad antioxidante en soluciones, compuestos puros y mezclas acuosas. El procedimiento original consistía en la activación de la metilmioglobina mediante peróxido de hidrógeno en presencia de ABTS, lo que generaba un radical catiónico detectable, tanto en presencia como en ausencia de antioxidantes. Este enfoque fue cuestionado, ya que los antioxidantes podían reducir de forma rápida al radical ferrilmioglobina, alterando así la precisión del análisis. Posteriormente, se desarrolló una versión mejorada basada en la técnica de decoloración, la cual genera directamente un radical catiónico  $\text{ABTS}^+$  estable, antes de exponerlo a los antioxidantes, este método consiste en oxidar el ABTS mediante persulfato de potasio ( $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ), lo que da lugar a la formación de un cromóforo de color verde-azulado, con picos de absorción característicos en 645, 734 y 815 nm (Re et al., 1999).

Al incorporar un antioxidante, este actúa reduciendo el radical catión  $\text{ABTS}^+$  a su forma neutra, y se observa una disminución de la absorbancia del cromóforo, la magnitud de esta decoloración permite calcular el porcentaje de inhibición, el cual depende de la concentración del antioxidante y del tiempo de reacción, para cuantificar la capacidad antioxidante. Los resultados suelen expresarse en equivalentes de Trolox, utilizando esta molécula como estándar de referencia en las mismas condiciones experimentales (Tovar del Río, 2013).

### **3.19 (2,2-difenil-1-picrilhidracilo) (DPPH):**

La molécula DPPH es un radical libre estable, lo cual se debe a la deslocalización del electrón desapareado a lo largo de toda su estructura molecular. Esta característica impide que la molécula se dimerice a diferencia de lo que ocurre comúnmente con otros radicales libres. La deslocalización electrónica también es responsable de su color violeta intenso, que presenta un máximo de absorción a 517 nm cuando se disuelve en metanol, cuando una solución de DPPH entra en contacto con un antioxidante, este puede donar un átomo de hidrógeno al radical, reduciéndolo y provocando la desaparición del color violeta, por lo cual este cambio de color se monitoriza mediante espectrofotometría, y sirve para

evaluar cuantitativamente la capacidad antioxidante de compuestos o extractos (Tovar del Río, 2013, Brand-Williams et al., 1995).

En la mayoría de los estudios, los resultados se reportan como el valor  $IC_{50}$ , que corresponde a la concentración de antioxidante necesaria para reducir en un 50% la concentración inicial de DPPH. Este parámetro se obtiene graficando el porcentaje de inhibición frente a distintas concentraciones del extracto; cabe señalar que el valor de  $IC_{50}$  puede variar de acuerdo a la concentración final del DPPH usado para extractos de plantas o compuestos puros (Deng et al., 2011).



#### **IV. Hipótesis.**

Las nanofibras poliméricas electroestiradas cargadas con extractos acuosos de *C. aequipetala* tendrán propiedades antioxidantes y antiproliferativas contra una línea de cáncer cervicouterino (HeLa).

## V. Objetivos.

Objetivo general:

Evaluar las propiedades antioxidantes y antiproliferativas contra una línea de cáncer cervicouterino (HeLa) de nanofibras poliméricas electroestiradas cargadas con extractos acuosos de *C. aequipetala*.

Objetivos específicos.

- Determinar los componentes bioactivos presentes en extractos acuosos de *C. aequipetala* mediante un análisis metabolómico realizado por UPLC-MS.
- Desarrollar mediante la técnica de electroestirado nanofibras poliméricas híbridas (Eudragit EPO/PVA/quitosano) libres y cargadas con extracto acuoso de la planta *C. aequipetala*.
- Estudiar las propiedades fisicoquímicas (diámetro, morfología, potencial zeta, propiedades espectroscópicas) de nanofibras libres y cargadas con extracto acuoso de *C. aequipetala* mediante diversas técnicas analíticas.
- Evaluar las propiedades antioxidantes del extracto acuoso y nanofibras libres y cargadas de compuestos bioactivos de *C. aequipetala*.
- Examinar las propiedades antiproliferativas de los componentes bioactivos de *C. aequipetala*, nanofibras libres y nanofibras cargadas con extractos acuosos de *C. aequipetala* en un modelo 2D de cáncer cervicouterino (células HeLa).

## **VI. Materiales y métodos.**

### **6.1 Materiales**

En el desarrollo de este proyecto se utilizaron los siguientes materiales:

Eudragit EPO, polivinil alcohol (PVA), *Cuphea aequipetala*, quitosano de medio peso molecular, ácido acético glacial, agua destilada, etanol al 96%, PBS, metanol, ácido fórmico, acetonitrilo, agua desionizada, persulfato de potasio, ABTS, TROLOX, DPPH, medio de cultivo inactivado, tripsina, dimetilsulfóxido, MTT, células HeLa (Wong-Paz et al., 2015, Mirzaeei et al., 2021 & Uscanga Palomeque, 2014).

### **6.2 Metodología**

#### **6.2.1 Preparación del extracto.**

Las hojas de *Cuphea aequipetala* se obtuvieron del mercado Independencia en Morelia, Michoacán. Se lavaron con agua destilada, se secaron durante 12h y se trituraron en un molino convencional (Krupps). El polvo obtenido fue disuelto en una solución 70:30, agregando 70 ml de etanol (EtOH) previamente ajustado, con 30 ml de agua destilada. La mezcla se mantuvo en agitación magnética constante (200 rpm) por 45 min a 65°C, se dejó enfriar a temperatura ambiente y se filtró usando un papel filtro Whatman de 150 mm. El extracto obtenido se congeló a -20°C y se liofilizó. Finalmente, el polvo obtenido se almacenó en viales ámbar a 4-8°C.

#### **6.2.2 Análisis metabolómico.**

El análisis metabolómico del extracto acuoso de *C. aequipetala* se realizó utilizando un sistema Acquity UPLC I-Class (Waters®) acoplado a un detector de arreglo de diodos (DAD) y un espectrómetro de masas VION IMS QToF con fuente de ionización por electrospray (ESI). Este sistema permite la separación y detección precisa de compuestos con alta resolución cromatográfica y sensibilidad espectrométrica.

La muestra fue previamente diluida en metanol grado masas hasta una concentración final de 2.5 mg/ml. Para la separación cromatográfica se utilizó una columna BEH C18 (2.1 × 100 mm, 1.7 µm), con fases móviles compuestas por acetonitrilo (ACN) y agua, ambas acidificadas con ácido fórmico al 0.1% (v/v). El gradiente empleado fue el siguiente:

*Tabla 1. Gradiente empleado*

<b>Tiempo</b>	<b>ACN</b>	<b>Agua</b>
<b>0</b>	95	5
<b>2</b>	95	5
<b>22</b>	5	95
<b>25</b>	5	95
<b>27</b>	95	5
<b>30</b>	95	5

El análisis se desarrolló bajo un flujo constante de 0.4 ml/min, con la columna termostatada a 35°C y la temperatura de la muestra mantenida a 10°C. El volumen de inyección fue de 2 µl.

Se realizó un barrido espectral en el intervalo de 210 a 600 nm, monitoreando longitudes de onda específicas en 214, 280, 320, 360 y 520 nm (este último en modo de ionización positiva), la ionización se ejecutó en modo positivo y negativo, con un voltaje de capilar de 3.5 kV (positivo) y 2.0 kV (negativo), el modo de adquisición empleado fue MSE, utilizando una energía de colisión baja de 6 eV y una rampa de alta energía entre 15 y 45 eV, el rango de masas analizado abarcó de 50 a 1800 m/z. La fuente de ionización se mantuvo a una temperatura de 120°C, con una temperatura de desolvatación de 450°C. Se utilizó argón como gas de colisión, con un flujo de 50 L/h, y nitrógeno como gas de desolvatación, con un flujo de 800 L/h. El voltaje de cono fue ajustado a 40 V. Para asegurar la precisión en la calibración de masas, se utilizó leucina encefalina a una concentración de 200 pg/µl, infundida a 10 µl/min como referencia interna para corrección continua de masa.

El procesamiento y análisis de datos se realizó mediante el software Unifi 1.9 SR4 (Waters®), utilizando bibliotecas de referencia propias del Laboratorio Especializado en Análisis de Alimentos, así como las bases de datos de The

University of Mississippi Botanical Library y The University of Ottawa Phytochemical Library. Se estableció una tolerancia de error de 5 ppm para la coincidencia de masa en la identificación de compuestos, para el análisis de fragmentación, se consultaron datos reportados en PubChem, FooDB v1.0 y HMDB v5.0, en los casos en los que no se encontraron patrones de fragmentación reportados, se recurrió a la predicción in silico de fragmentos mediante el propio software, con una tolerancia de 10 mDa.

### **6.2.3 Desarrollo de nanofibras poliméricas (Eudragit EPO/PVA/quitosano) por el método de electroestirado.**

Se prepararon 3 soluciones que se implementaron en el proceso de electroestirado:

Eudragit EPO (1% p/v) en solución etanólica, PVA (5% p/v) en solución acuosa y quitosano (0.2% p/v) en solución de ácido acético 1.5%, todo se adicionó en 100 ml respectivamente.

Previo a la formación de las nanofibras electroestiradas, mediante agitación magnética (200 rpm) durante 15 min, se mezclaron 10ml de una solución de Eudragit EPO (1% p/v, en etanol) con 20 ml de una solución de PVA (5% p/v, en H<sub>2</sub>O). Posteriormente, la mezcla se emulsificó mediante homogenización de alta velocidad (2000 rpm) durante 1 min. Finalmente, se agregaron 6 ml de una solución de quitosano al 0.2% (p/v) disuelto en ácido acético 1.5% y la mezcla se homogenizó 1 min a 2000 rpm.

Para la formulación de las nanofibras cargadas con extracto, se disolvieron 6 mg de extracto acuoso liofilizado de *C. aequipetala* en 20 ml de una solución de PVA (5% p/v, en H<sub>2</sub>O), manteniendo la mezcla en agitación magnética (2000 rpm) durante 15 min. Posteriormente, se emulsificó mediante homogenización a alta velocidad (2000 rpm) durante 1 min, una vez finalizada esta etapa, se incorporaron 10 ml de solución de Eudragit EPO (1% p/v, en etanol), conservando las condiciones de agitación (2000 rpm) por 15 min, seguidos de 1 min de homogenización. Finalmente, se adicionaron 6 ml de quitosano (0.2% p/v) previamente disuelto en ácido acético al 1.5% (v/v), la mezcla se agitó durante

15 min a 2000 rpm y se homogenizó durante 1 min, hasta obtener una solución polimérica homogénea.

Ambas soluciones (fibras libres y fibras cargadas), fueron electroestiradas, utilizando una distancia de 15 cm entre la punta de la aguja (boquilla) y el colector, una velocidad de alimentación de 22  $\mu$ l/min, un voltaje aplicado de 15 kV, y una velocidad de rotación del colector de 400 rpm. Las fibras formadas se retiraron cuidadosamente con ayuda de una pulsera y tapete antiestática para evitar acumulación de carga superficial y fueron almacenadas en viales estériles hasta su caracterización.

#### **6.2.4 Caracterización de las propiedades fisicoquímicas de las nanofibras libres y cargadas con extractos acuosos de *C. aequipetala*.**

##### **6.2.4.1 Espectroscopía Ultravioleta Visible (UV-Vis):**

Se preparó una dilución 1:10 del extracto en etanol al 30% v/v, la solución resultante fue colocada en una celda de cuarzo y analizada en un espectrofotómetro UV-Vis Genesys 10S (Thermo Scientific®), realizando un barrido espectral entre 250 y 800 nm. El espectro obtenido fue registrado y posteriormente analizado utilizando el software Origin®, con el fin de identificar máximos de absorbancia característicos de compuestos fenólicos y flavonoides presentes en el extracto.

##### **6.2.4.2 Evaluación de solubilidad e hinchamiento:**

Se pesaron 1 mg de tres tipos de muestras: fibras libres, fibras cargadas con extracto y fibras compuestas por Eudragit/PVA, cada muestra fue colocada por separado en 10 ml de disolución de etanol, PBS (solución salina tamponada) y agua destilada, respectivamente. Las muestras se incubaron a temperatura ambiente durante 24 horas, transcurrido ese tiempo, las fibras fueron cuidadosamente secadas y pesadas, con el objetivo de calcular el grado de hinchamiento o solubilidad en cada medio.

#### **6.2.4.3 Microscopía Electrónica de Barrido (SEM):**

La microscopía electrónica de barrido fue empleada para analizar la morfología superficial y el diámetro promedio de las nanofibras, tanto libres como cargadas con el extracto acuoso, las muestras fueron fijadas sobre soportes de aluminio con cinta de carbón conductora y recubiertas con una fina capa de oro mediante pulverización catódica para mejorar su conductividad eléctrica, el análisis fue realizado en un microscopio electrónico de barrido ZEISS EVO 50®, y se capturaron imágenes representativas de cada muestra para su posterior análisis morfológico y de diámetro aleatoriamente con ayuda del software ImageJ.

#### **6.2.4.4 Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR-ATR):**

Las muestras de extracto, fibras libres y fibras cargadas se colocaron directamente sobre el cristal Platinum ATR de diamante utilizando una espátula, asegurando una cobertura completa del área de lectura, se aplicó presión con la prensa del equipo y se registraron 16 escaneos por muestra utilizando el espectrofotómetro Tensor 27 (Bruker®). Los espectros obtenidos fueron corregidos eliminando el ruido de fondo, así como las interferencias derivadas de CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O, y posteriormente procesados para su interpretación.

#### **6.2.5 Propiedades antioxidantes mediante el ensayo ABTS y DPPH.**

##### **6.2.5.1 Ensayo ABTS (2,2'-Azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)):**

Siguiendo una metodología modificada del protocolo de investigación del Laboratorio de Bionanotecnología (BiNat) en conjunto con la Dra. Lluvia (Wong-Paz et al., 2015) como estándar de referencia se utilizó Trolox, un análogo hidrosoluble de la vitamina E.

Se preparó una solución madre de Trolox a 4 mM (1 mg/ml) disolviendo 5 mg en etanol y aforando a 5 ml, protegiéndola de la luz durante todo el procedimiento, para la generación del radical ABTS<sup>+</sup> se preparó una mezcla de ABTS a 7 mM y persulfato de potasio a 2.45 mM, disolviendo 0.0194 g de ABTS y 0.0033 g de persulfato de potasio en agua desionizada, aforando a un volumen final de 5 ml, la mezcla fue incubada en la oscuridad a temperatura ambiente durante 12 horas, permitiendo la formación completa del radical.

Posteriormente, el radical ABTS<sup>+</sup> preformado fue diluido con etanol al 80% hasta alcanzar una absorbancia de  $0.700 \pm 0.02$  a 734 nm, añadiendo 0.8 ml del radical a 60 ml de etanol al 80%, esta solución se utilizó para todas las mediciones posteriores. Se realizó una lectura en blanco utilizando únicamente etanol al 80% y una lectura control con 20 µl de etanol al 80% + 280 µl de solución de ABTS ajustada, para la curva estándar, se prepararon distintas concentraciones de Trolox diluido en etanol al 80%, y se mezclaron 20 µl de cada dilución con 280 µl de la solución de ABTS<sup>+</sup> (tabla 2), las muestras fueron incubadas durante 7 min a temperatura ambiente, y posteriormente se midió la absorbancia a 734 nm utilizando el fotómetro Thermo Electron Multiskan Ascent.

Para evaluar la actividad antioxidante de las muestras experimentales, se prepararon 5 muestras de extracto acuoso de *C. aequipetala* previamente liofilizado, a una concentración de 1 mg/ml en agua destilada, 5 muestras de nanofibras libres (30 mg/ml) y 5 muestras de nanofibras cargadas con extracto (30 mg/ml).

Cada muestra fue tratada por separado, añadiendo 20 µl de la muestra a 280 µl de la solución ajustada de ABTS<sup>+</sup>, las mediciones se realizaron en intervalos de 8 minutos, con un tiempo de incubación estándar de 7 minutos antes de la lectura espectrofotométrica. Todas las mediciones se realizaron por triplicado.

Tabla 2. Preparación de muestras para la curva de calibración.

No. De tubo	Concentración Trolox µM	Volumen Trolox µl	Volumen etanol 80% µl	Tomar	Solución ABTS ajustada
1	500	62.5	437.5	20µl	280µl
2	300	37.5	462.5	20µl	280µl
3	240	30.0	475	20µl	280µl
4	180	22.5	477.5	20µl	280µl
5	120	15.0	485	20µl	280µl
6	60	75	492.5	20µl	280µl



#### 6.2.5.2 Ensayo (2,2-difenil-1-picrilhidracilo) (DPPH):

Siguiendo de igual manera la metodología modificada del protocolo de investigación del BiNat y en conjunto de la Dra. Lluvia (Chung et al., 2014). Para la preparación de la solución madre de DPPH, se pesaron 2 mg de DPPH y se disolvieron en 100 ml de etanol al 80% (v/v), la solución fue protegida de la luz y su absorbancia fue ajustada a un valor cercano a  $0.700 \pm 0.02$  a 517 nm.

La curva de calibración del estándar Trolox (*tabla 3*) se preparó a partir de una solución madre de 1000 ppm (1 mg/ml) en etanol al 80%, realizando diluciones seriadas para cubrir un rango representativo de concentraciones, para cada punto de la curva, se mezclaron 100  $\mu$ l del estándar de Trolox con 1900  $\mu$ l de la solución de DPPH, incubando la mezcla durante 30 minutos a temperatura ambiente en oscuridad, posteriormente, se midió la absorbancia a 517 nm mediante espectrofotometría UV-Vis.

Para la evaluación de la actividad antioxidante de las muestras experimentales, se prepararon soluciones a 1000 ppm, disolviendo por separado 3 mg de nanofibras libres, 3 mg de nanofibras cargadas con extracto, y 1 mg de extracto liofilizado de *C. aequipetala* en 1 ml de agua destilada. De cada solución, se tomaron 100  $\mu$ l y se adicionaron a 1900  $\mu$ l de la solución de DPPH, incubando por 30 minutos bajo las mismas condiciones descritas. Finalmente, se realizó la medición de absorbancia a 517 nm, todas las muestras fueron analizadas en triplicado.

Tabla 3. Diluciones para curva de calibración.

No. De tubo	Trolox ( $\mu$ l)	Etanol 80% ( $\mu$ l)	mg/ml dilución	mg/ml celda
1	0	1000	0	0
2	24	976	24	1.2
3	48	952	48	2.4
4	72	928	72	3.6
5	96	904	96	4.8
6	120	880	120	6.0

### **6.2.6 Ensayo 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5- difeniltetrazolio bromuro (MTT).**

La evaluación de la actividad metabólica de las nanofibras y del extracto acuoso de *C. aequipetala* se llevó a cabo mediante un ensayo *in vitro* utilizando la línea celular humana de cáncer cervicouterino HeLa, obtenida de American Type Culture Collection (ATCC) como CCL-2. Las células se sembraron en placas de cultivo de 96 pozos y se incubaron a 37 °C con 5% de CO<sub>2</sub> en una atmósfera húmeda durante 24 horas para permitir su adherencia y recuperación. Transcurrido este periodo, se retiró el medio de cultivo y se reemplazó por medio fresco, se colocaron en los respectivos pozos discos de 5 mm de diámetro de nanofibras libres y cargadas con extracto acuoso, previamente esterilizados con luz ultravioleta en el equipo Labculture® Class II Type A2 Biological Safety Cabinet. Simultáneamente, se adicionaron diferentes concentraciones del extracto acuoso de *C. aequipetala* (62.5, 125, 250 y 500 µg/ml) disueltas en medio de cultivo. Las placas se incubaron durante 2, 4, 6, 24 y 48 horas bajo las mismas condiciones controladas de temperatura y CO<sub>2</sub>.

Luego de la incubación de las células HeLa durante 48 horas con los tratamientos correspondientes, se retiró el medio de cultivo y se adicionaron 290 µl de medio de cultivo (sin suero fetal bovino) mezclado con 10 µl de una solución de MTT colorimetric assay (ROCHE Cell Proliferation Kit I), preparada a una concentración final de 0.5 mg/ml. Las placas fueron incubadas durante 3 horas a 37 °C en atmósfera húmeda con 5% de CO<sub>2</sub>, permitiendo la reducción del MTT por enzimas mitocondriales activas y la formación de cristales de formazán insolubles de color violeta. Una vez finalizado el tiempo de incubación, se agregó 100 µl de dimetilsulfóxido (DMSO) a cada pozo con el fin de solubilizar los cristales de formazán, las placas se mantuvieron en reposo por 30 minutos a temperatura ambiente y protegidas de la luz, finalmente, se midió la absorbancia de cada pozo a 570 nm utilizando un lector de microplacas SpectraMax® ABS, dado que a esta longitud de onda maximiza la absorbancia del formazán permitiendo una evaluación precisa de la viabilidad celular.

## VII. Resultados

### 7.1 Microscopía Ultravioleta Visible (UV-Vis):

El espectro UV-Vis nos confirma la presencia de compuestos bioactivos presentes en el extracto, algunos de estos incluyen flavonoides, polifenoles, ácidos fenólicos, entre otros metabolitos secundarios presentes en el extracto (Mabasa et al., 2021). En la *figura 4* se muestra un máximo de absorción amplio en la región ultravioleta, predominantemente entre los 200 y 300 nm, este tipo de absorción es característico de mezclas vegetales ricas en compuestos fenólicos y flavonoides, los cuales presentan sistemas conjugados capaces de realizar transiciones electrónicas. Al realizar diluciones seriadas del extracto, se observó una disminución progresiva en la intensidad del pico de absorción, lo cual es un comportamiento esperado conforme disminuye la concentración de los cromóforos presentes, el ancho del pico de absorción se atribuye a la naturaleza compleja del extracto en el que coexisten múltiples compuestos con estructuras aromáticas conjugadas cuyas bandas electrónicas se superponen. No obstante, el espectro conservó su forma general, lo que sugiere estabilidad estructural de los compuestos activos ante una dilución. Se observó un ligero desplazamiento hacia longitudes de onda mayores (corrimiento al rojo) conforme se redujo la concentración, esto puede atribuirse a cambios en el entorno molecular, como la pérdida de interacciones intermoleculares o variaciones en la polaridad del medio, sin implicar alteración química o degradación de los metabolitos, dicho desplazamiento es común en extractos vegetales y no afecta significativamente la interpretación espectral.

Se realizó un análisis de regresión lineal (*Figura 5*), obteniendo un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 0.9893, lo que indica una relación lineal fuerte y consistente con la ley de Beer-Lambert (Skoog et al., 2008). Esta linealidad sugiere que, dentro del rango evaluado, no hay fenómenos de saturación del detector, dispersión de la luz, ni efectos de agregación significativos que interfieran en la cuantificación.

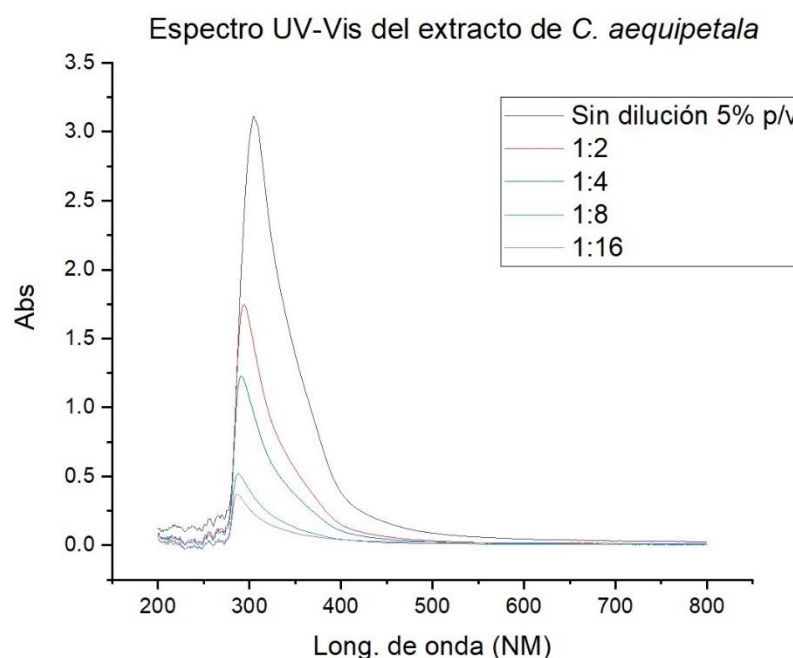


Figura 4. UV-Vis del extracto de *Cuphea aequipetala* en diferentes diluciones.

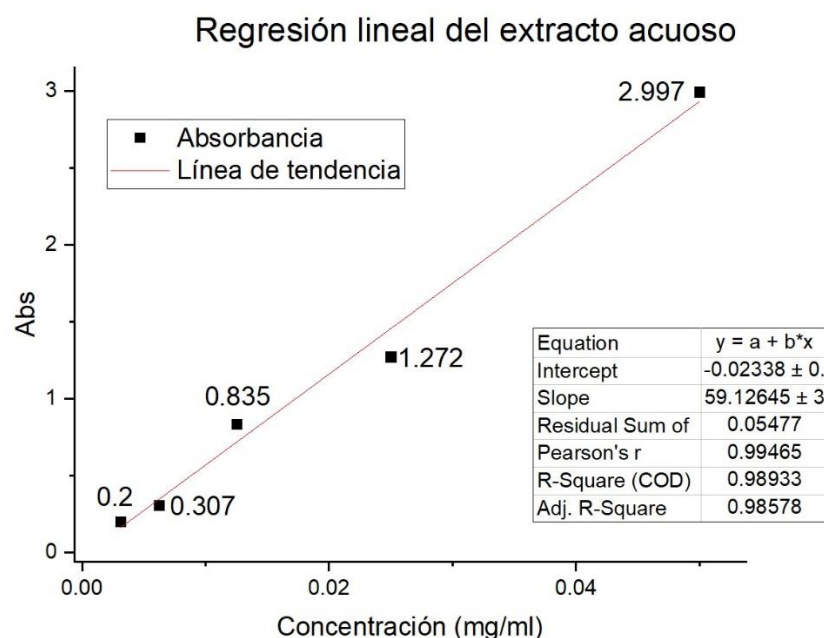


Figura 5. Regresión lineal del extracto acuoso de *Cuphea aequipetala*.

## 7.2 Análisis Metabólico.

Mediante el análisis metabólico se logró identificar una variedad de metabolitos secundarios presentes en el extracto acuoso de *Cuphea aequipetala*, cuya separación y detección dependieron de su polaridad y peso

molecular, entre los compuestos detectados se encuentran flavonoides, triterpenos, catequinas, compuestos fenólicos, ácidos fenólicos, entre otros (*tabla 4*), algunos de estos compuestos han sido reportados en la literatura por su actividad biológica (Waizel-Bucay et al., 2003) y potencial terapéutico en el tratamiento del cáncer (Uscanga Palomeque, 2014).

Además, podemos observar compuestos con Tiempo de retención (Tr) bajos (<6 min) que son más polares y tienen mayor solubilidad en agua y compuestos con Tr altos (>10 min) que son menos polares, tienen mayor retención y tienen una absorción más lenta en medios acuosos. El compuesto con mayor disponibilidad y menor Tr (0.69 min) es (-)-Epigallocatechin, una catequina conocida por su alta solubilidad en agua, potente actividad antioxidante y antiproliferativa, además de contar con una rápida absorción en sistemas biológicos. Así mismo la presencia de compuestos como corilagin, quercetin-3,7-di-O-beta-D-glucoside e hyperoside todos con Tr entre 4.6–6.9 min, cuentan con una fuerte actividad antioxidante.

Hasta la fecha, la información científica disponible sobre la composición fitoquímica específica de *C. aequipetala* es limitada, y no se han reportado estudios metabolómicos detallados que caractericen sus componentes. Por lo tanto, los resultados obtenidos en este trabajo representan una contribución original al conocimiento fitoquímico de la especie, al evidenciar la presencia de compuestos bioactivos con potencial aplicación en nanomedicina, farmacología y desarrollo de terapias oncológicas alternativas.

*Tabla 4. Análisis metabolómico de compuestos químicos organizados por categorías.*

<b>Análisis Metabolómico</b>		
<b>Tipo de compuesto</b>	<b>Compuesto</b>	<b>Tr (min)</b>
<b>Flavonoides y Glucósidos</b>	Rutin (Rutina)	6.16
	Hyperoside	6.33
	Kaempferol-3-O-	6.64
	Rutinoside(Nictoflorin)	
	Quercetin-3-arabinoglucoside	5.89
	Kaempferol-3-O-glucoside-2-	6.65
<b>Flavonoides</b>	gallate	

<b>Triterpenos y Ácidos Triterpénicos</b>	Astragalin	6.83
	Quercetin	6.34
	Isorhamnetin-3-O-glucoside	6.95
	Kaempferitrin	6.15
	Quercetin-3,7-di-O-beta-D-glucoside	4.7
	Apigenin-7-O-glucoside	6.23
	Narcissoside	6.74
	Ursolic acid	23.41
	Urs-12-en-28-oic acid, AH4	8.16
	Oleanane-glucopyranosiduronic acid deriv-1	8.13
	Methyl angolensate	22.51
	Ciwujianoside A4	13.66
	Acanthopanaxoside B	14.73
	Acankoreoside C, E, B	8.7
	Corilagin	4.62
<b>Fenoles y Ácidos Fenólicos</b>	Strictinin	5.14
	Geraniin	5.11
	Ácido Elágico	6.07
	Punigluconin	4.72
	Chebulagic acid	6.4
	Pedunculagin	5.69
<b>Catequinas y Epicatequinas</b>	(E)-Ácido ferúlico	6.47
	(-)-Epigallocatechin	0.69
	Epigallocatechin gallate (EGCG)	0.69
<b>Otros Compuestos</b>	Gamma-tocotrienol	22.54
	6-Gingerol	12.04
	Chymostatin	6.41
	Licoisoflavone A	0.64
	Eleutheroside B1	0.63
	Ricinoleic acid	16.33
	Di-Methylacetal-4-O-glucopyranoside	5.45

### 7.3 Caracterización de las propiedades fisicoquímicas del extracto, nanofibras libres y nanofibras cargadas con extractos acuosos de *C. aequipetala*.

#### 7.3.1 Microscopía Electrónica de Barrido (SEM):

La caracterización morfológica de las nanofibras libres y cargadas con extracto acuoso de *Cuphea aequipetala* fue realizada mediante microscopía electrónica de barrido (SEM). En las micrografías obtenidas *figura 6* se observa que ambas muestras presentan una morfología compuesta por fibras estiradas acompañadas de estructuras tipo perlas, una característica comúnmente reportada cuando se utilizan soluciones poliméricas con viscosidades bajas y parámetros de electrohilado no completamente ajustados (Haider et al., 2018).

El análisis de diámetro, realizado mediante el software ImageJ y Origin mostró un valor promedio en cien fibras analizadas de 41 nm para las fibras libres y 37 nm para las fibras cargadas, con una desviación estándar de 4.75 y 6.79 respectivamente. El análisis estadístico del diámetro de las nanofibras indicó que no existe una diferencia significativa entre las fibras libres ( $41.04 \pm 0.475$  nm) y las fibras cargadas con extracto ( $37.71 \pm 0.679$  nm) ( $p = 0.4055$ ), como se muestra en la *tabla 5*.

La distribución de los diámetros de las nanofibras fue evaluada mediante un histograma de frecuencia, los cuales permiten observar el comportamiento estadístico y la homogeneidad de los diámetros obtenidos para ambos tipos de fibras (*figura 6*). En el histograma correspondiente a las nanofibras cargadas, se observa una distribución normal con una asimetría hacia la derecha (asimetría positiva), lo cual indica que la mayoría de los diámetros se encuentran en el rango de 30 a 40 nm, siendo esta la clase modal. La curva de ajuste sugiere una variabilidad mayor en comparación con las fibras libres, con diámetros que van desde los 20 hasta 55 nm, esta dispersión puede atribuirse a la incorporación del extracto de *C. aequipetala*, en la solución precursora.

Por otro lado, el histograma de las nanofibras libres muestra una distribución más simétrica y centrada, con un pico modal en el intervalo de 40 a 45 nm, y una dispersión que se extiende desde 30 hasta 60 nm. Esta menor variabilidad

sugiere una mayor homogeneidad en el proceso de formación de fibras en ausencia de extracto, atribuible a la estabilidad de la mezcla polimérica PVA/Eudragit/quitosano sin interferencia de compuestos bioactivos.

Comparando ambas distribuciones, se observa que las nanofibras cargadas presentan un diámetro promedio ligeramente menor, así como una mayor dispersión de datos, lo cual concuerda con los resultados del análisis estadístico previo y sugiere que la incorporación del extracto acuoso impacta la morfología final.

La presencia de perlas en las fibras puede explicarse por un equilibrio inadecuado entre la tensión superficial de la solución y las fuerzas electrostáticas generadas durante el proceso de estiramiento, donde soluciones con baja viscosidad o fuerzas de repulsión insuficientes tienden a formar gotas esféricas o perlas intermitentes en lugar de fibras continuas (Haider et al., 2018). Así mismo, uno de los parámetros críticos del proceso es la distancia entre la punta de la aguja y el colector, en este estudio, se utilizó una distancia fija de 15 cm, Bae et al., (2013) reportó que distancias menores favorecen la formación de fibras con mayor cantidad de defectos y diámetros más grandes, debido al tiempo limitado de vuelo y de evaporación del solvente, por el contrario, un incremento en esta distancia permite una mayor extensión del chorro, una evaporación más eficiente y, por tanto, la formación de fibras más delgadas y uniformes. Tomando en cuenta estos hallazgos, se concluye que, si bien las fibras obtenidas presentan un diámetro promedio favorable para aplicaciones biomédicas, la presencia de perlas podría comprometer la uniformidad y funcionalidad superficial, especialmente en aplicaciones donde se requiere una distribución homogénea del agente bioactivo. Por tanto, ajustes adicionales en la viscosidad de la solución (por ejemplo, modificando la concentración polimérica o la cantidad de extracto), así como una optimización de la distancia de electrohilado, podrían contribuir a mejorar la morfología de las fibras, minimizando la presencia de defectos sin comprometer el diámetro.



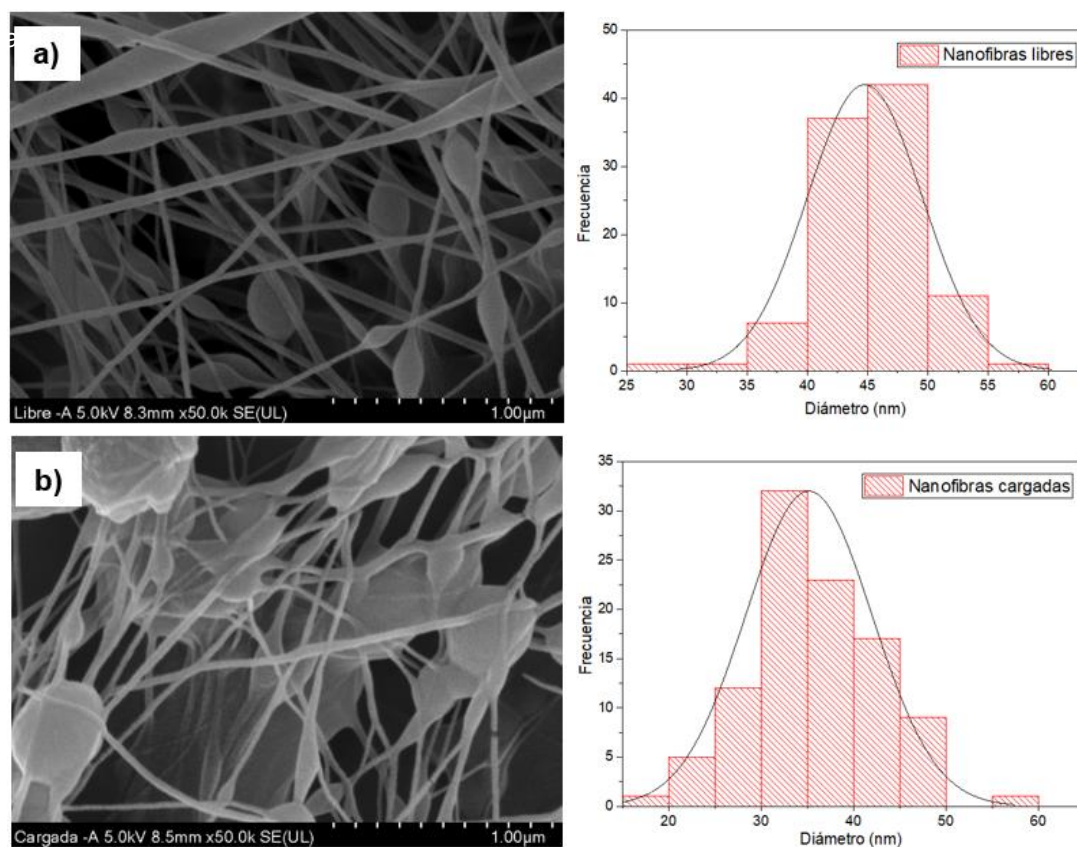


Figura 6. Micrografías SEM a) nanofibras libres, b) nanofibras cargadas con extracto de *C. aequipetala* e histograma del diámetro.

Tabla 5. Análisis estadístico del diámetro de las fibras libres y cargadas de extracto.

Grupo	n	Media (nm)	Desviación estándar (nm)	Error estándar (nm)	p-value
Fibras libres	100	41.04	4.75	0.475	0.4055
Fibras cargadas	100	37.71	6.79	0.679	—

### 7.3.2 Análisis de Espectroscopía Infrarroja por transformada de Fourier.

El análisis FTIR permitió identificar los grupos funcionales presentes en los polímeros individuales (quitosano, PVA y Eudragit EPO), así como en el extracto de *Cuphea aequipetala*, en las nanofibras libres y nanofibras cargadas de extracto. En la figura 7 se presentan los espectros de los polímeros, donde se observaron bandas características asociadas a sus grupos funcionales y en la

*tabla 6* se observa su información. En el caso del quitosano, se identificó una banda ancha en la región  $3400\text{--}3200\text{ cm}^{-1}$ , atribuida a los estiramientos O–H, indicando la presencia de grupos hidroxilo y la posibilidad de establecer enlaces de hidrógeno, confirmando su potencial mucoadhesivo, en el intervalo de  $3300\text{--}3100\text{ cm}^{-1}$ , se observaron vibraciones de estiramiento N–H, correspondientes a los grupos amina primarios, lo que confirma su capacidad de interacción química con otros compuestos polares, también se detectaron vibraciones amida en la región  $1560\text{--}1500\text{ cm}^{-1}$ , asociadas al grupo funcional del quitosano (amina e hidroxilo).

El PVA mostró igualmente una banda ancha en  $3400\text{--}3200\text{ cm}^{-1}$ , correspondiente a los grupos O–H libres y enlazados, confirmando su carácter hidrofílico y potencial mucoadhesivo, las señales observadas en  $2920\text{--}2850\text{ cm}^{-1}$  corresponden a los estiramientos C–H de grupos metilo y metileno.

En el espectro de Eudragit EPO, se identificó una banda intensa en la región  $1650\text{--}1550\text{ cm}^{-1}$ , atribuida a la vibración del enlace carbonilo (C=O) presente en los grupos éster del polímero, adicionalmente, las bandas ubicadas en el intervalo  $1250\text{--}1050\text{ cm}^{-1}$  se atribuyen al estiramiento C–O–C de los ésteres, que es consistente con su composición química.

En la *figura 8* se presentan los espectros correspondientes a las nanofibras libres, nanofibras cargadas con el extracto de *Cuphea aequipetala* y el extracto puro y en la *tabla 7* se muestra su información del espectro. Se aprecia nuevamente una banda ancha en la región  $3400\text{--}3200\text{ cm}^{-1}$ , que corresponde a los estiramientos O–H, comunes a los grupos hidroxilo presentes tanto en los polímeros como en los compuestos fenólicos del extracto, la disminución de intensidad de esta banda en las nanofibras cargadas sugiere la formación de enlaces de hidrógeno entre el extracto y la matriz polimérica, lo cual favorece la estabilidad del sistema, en la región de  $3000\text{--}2800\text{ cm}^{-1}$ , se mantuvieron las señales de estiramiento C–H, asociadas a los grupos metilo y metileno, se identificó una banda en  $1750\text{--}1650\text{ cm}^{-1}$ , característica del estiramiento C=O, tanto en el extracto como en los polímeros, lo que indica interacción química entre carbonilos y otros grupos funcionales, una señal importante en la zona  $1600\text{--}1500\text{ cm}^{-1}$  corresponde a vibraciones C=C aromáticas, confirmando la

presencia de compuestos fenólicos en el extracto, los cuales están asociados con su actividad antioxidante, en las bandas de 1500–1400  $\text{cm}^{-1}$  sugieren la presencia de grupos  $\text{NO}_2$ , que podrían estar relacionados con derivados nitroaromáticos en el extracto y finalmente, la señal observada entre 1250–1050  $\text{cm}^{-1}$ , atribuida al estiramiento C–O–C, refuerza la presencia de éteres tanto en los polímeros como en los compuestos del extracto.

El análisis de los espectros IR confirma la existencia de interacciones físico-químicas entre los polímeros constituyentes de las nanofibras y los compuestos bioactivos del extracto acuoso de *Cuphea aequipetala*, la disminución en la intensidad de las bandas O–H y el desplazamiento de las señales características de los enlaces C=O y C=C aromáticos sugieren la formación de enlaces de hidrógeno e interacciones específicas entre los grupos funcionales del extracto y la matriz polimérica, estos cambios evidencian que los compuestos del extracto se encuentran dispersos homogéneamente en la red polimérica, sin indicios de separación de fases, lo que permite clasificar al sistema como un sistema de tipo matricial. En este tipo de sistemas, el agente bioactivo queda embebido dentro de toda la matriz, lo que favorece su encapsulación eficiente y promueve una liberación controlada basada en procesos de difusión y/o degradación de la red polimérica. los resultados obtenidos no solo respaldan la eficaz incorporación del extracto en las nanofibras, sino que también refuerzan el potencial terapéutico del sistema desarrollado como plataforma de liberación controlada de compuestos con actividad antioxidante y antiproliferativa.

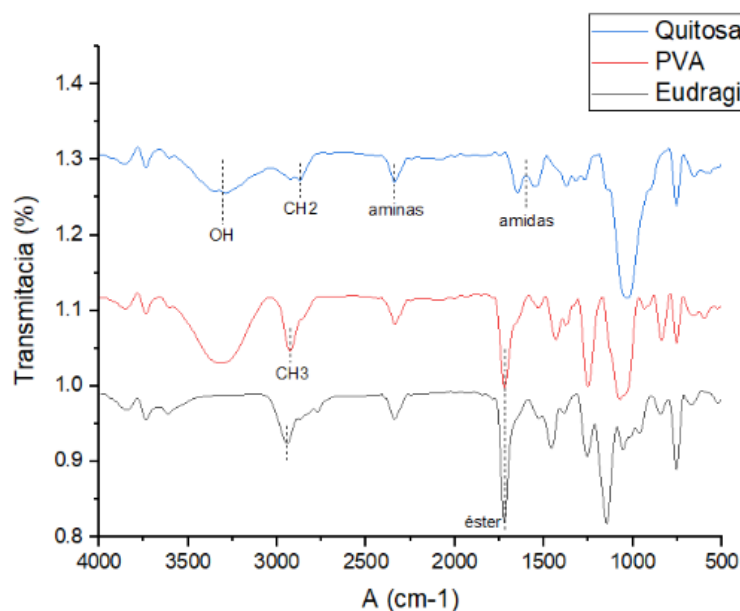


Figura 7. Espectroscopía Infrarroja de polímeros.

Tabla 6. Asignación de bandas de los polímeros.

Número de onda (cm <sup>-1</sup> )	Tipo de vibración	Grupo funcional	Polímero asociado	Molécula
3400-3200	Estiramiento O—H (ancho)	Hidroxilo	Quitosano, PVA	Alcoholes, polisacáridos
3300-3100	Estiramiento N-H	Amina primaria	Quitosano	Glucosamina
2920-2850	Estiramiento C—H (alifático)	Metilo y metileno	PVA	Etano, cadena vinílica
1650-1550	Estiamiento C=O	Carbonilo (éster)	Eudragit EPO	Ésteres, acrilatos
1560-1500	Vibración N-H / Amidas	Amidas secundarias	Quitosano	Quitina, proteínas
1250-1050	Estiramiento C-O-C	Éteres / enlaces éster	Eudragit EPO	Grupo éster, enlaces vinílicos

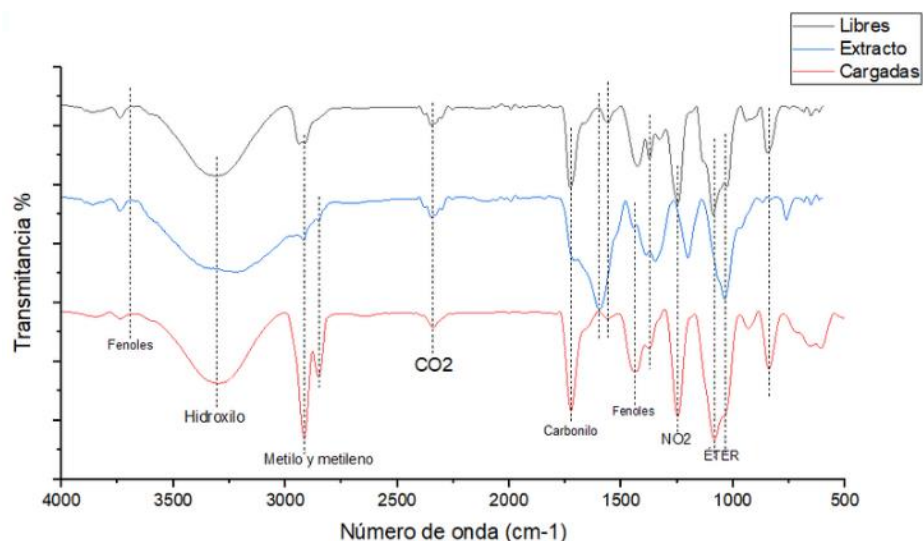


Figura 8. Espectroscopía Infrarroja de nanofibras libres, nanofibras cargadas y extracto de *Cuphea aequipetala*.

Tabla 7. Asignación de bandas de fibras y extracto.

Número de onda (cm <sup>-1</sup> )	Tipo de vibración	Grupo funcional	Polímero asociado	Molécula
3400-3200	Estiramiento O–H (ancho)	Hidroxilo / enlaces H	Polímeros, extracto	Fenoles, alcoholes, flavonoides
3000-2800	Estiramiento C–H (alifático)	Metilo y metileno	Polímeros	PVA, Eudragit EPO, cadenas vinílicas
1750-1650	Estiramiento C=O	Carbonilo	Extracto, polímeros	Ácidos fenólicos, ésteres
1600-1500	Vibración C=C (aromáticos)	Anillos aromáticos	Extracto, fibras cargadas	Flavonoides, taninos
1500-1400	Vibración NO <sub>2</sub>	Grupos nitroaromáticos	Extracto	Nitrofenoles, metabolitos secundarios
1250-1050	Estiramiento C-O-C	Éteres / enlaces éster	Polímeros, extracto	Flavonoides, polisacáridos, Eudragit EPO


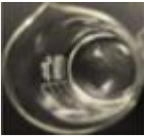







### 7.3.3 Solubilidad e hinchamiento:

La determinación de solubilidad e hinchamiento de nanofibras, es un paso importante para identificar los cambios generados por las mezclas de materia prima que conforman las fibras. Los resultados mostraron una dilución completa de las fibras en soluciones acuosas y en PBS, en contraste con las muestras en etanol al 80%, en las cuales se mantuvieron insolubles (*tabla 8*).

Este comportamiento sugiere una afinidad preferencial del sistema polimérico por medios hidrofílicos, atribuida a la interacción entre los grupos funcionales del Eudragit EPO (como grupos éster y amino terciarios) con los grupos hidroxilo del PVA, favoreciendo la formación de una red polimérica altamente soluble en medios acuosos, aunque Eudragit EPO es conocido por su solubilidad en medios alcohólicos, la presencia del PVA parece modificar su solubilidad, reduciendo su afinidad por el etanol debido a la formación de interacciones intermoleculares más estables que dificultan la disolución en este solvente, en condiciones etanólicas, las nanofibras no se disolvieron, pero sí mostraron capacidad de hinchamiento, por lo que se procedió a cuantificar este comportamiento midiendo el porcentaje de hinchamiento (*fórmula 1*) (*Rahimi et al., 2020*). Los resultados obtenidos (*tabla 9 y 10*) indican que las fibras formadas únicamente por Eudragit EPO/PVA presentaron el mayor porcentaje de hinchamiento, seguido por las nanofibras libres y, en menor medida, las fibras cargadas con extracto. Este comportamiento puede explicarse considerando la naturaleza altamente hidrofílica del PVA, el cual forma puentes de hidrógeno con moléculas de etanol, facilitando la absorción del solvente y la expansión de la matriz (Abbondandolo & Brewer, 2024); el Eudragit EPO, al ser soluble en solventes orgánicos, contribuye al hinchamiento por su estructura polimérica flexible que permite la separación de cadenas al absorber el etanol, la ausencia de otros componentes como quitosano o extracto en esta formulación potencia la entrada de solvente, aumentando la hinchazón del material (Fine-Shamir & Dahan, 2019). Por el contrario, las fibras libres y cargadas, que contienen quitosano y, en el caso de las cargadas, extracto acuoso, mostraron valores reducidos de hinchamiento, esto puede atribuirse a que el quitosano, al ser un polímero con estructura más reticulada, establece interacciones intermoleculares fuertes con Eudragit EPO y

PVA, lo que restringe la movilidad de las cadenas y limita la absorción del solvente. Además, el quitosano no presenta buena hidratación en etanol, lo que reduce aún más su capacidad de hinchamiento (Sonia & Sharma, 2011). En el caso de las fibras cargadas, la presencia de compuestos fenólicos y otros metabolitos bioactivos del extracto puede generar enlaces intermoleculares adicionales con la matriz polimérica, disminuyendo la movilidad de las cadenas y dificultando la penetración del solvente, lo cual se refleja en un hinchamiento aún menor, estos resultados evidencian cómo la composición química del sistema polimérico influye de forma significativa en su comportamiento frente a distintos solventes, y aportan información relevante sobre su estabilidad física y potencial funcional en aplicaciones biomédicas, especialmente en ambientes húmedos o en contacto con fluidos biológicos (Madiyar et al., 2024).

Tabla 8. Resultados de prueba de solubilidad en diferentes solventes.

	Fibras libres (Eudragit, PVA, quitosano)	Fibras cargadas (Eudragit, PVA, quitosano, extracto)	Fibras Eudragit/PVA
H2O	 ✓	 ✓	 ✓
PBS	 ✓	 ✓	 ✓
Etanol	 ✗	 ✗	 ✗

$$\text{Porcentaje de hinchamiento} = \frac{(\text{Peso final} - \text{Peso inicial})}{\text{Peso inicial}} \times 100\%$$

(1)

Tabla 9. Resultados del porcentaje de hinchamiento en etanol.

Porcentaje de hinchamiento en etanol			
Fibra	Peso inicial (mg)	Peso final (mg)	Hinchamiento
Libres	1.01	3.02	199.009%
	1.02	3.05	199.019%
	1.00	3.01	201.00%
Cargadas	1.03	3.06	197.087%
	1.00	3.01	201.00%
	1.02	3.04	198.039%
Eudragit/PVA	1.03	5.06	391.262%
	1.01	5.04	399.009%
	1.02	5.05	395.098%

Tabla 10. Análisis estadístico de los porcentajes de hinchamiento.

Análisis estadístico			
Fibra	Hinchamiento	Desviación estándar	Error estándar
Libres	199.68 %	1.15	0.66
Cargadas	198.71 %	2.04	1.18
Eudragit/PVA	395.12 %	3.87	2.24

## 7.4 Propiedades antioxidantes.

### 7.4.1 Ensayo ABTS:

La evaluación de la capacidad antioxidante representa un criterio fundamental para determinar el potencial terapéutico de compuestos naturales y sistemas de liberación controlada en enfermedades asociadas con el estrés oxidativo, como el cáncer cervicouterino. El ensayo ABTS fue fundamental para confirmar que los compuestos presentes en el extracto de *Cuphea aequipetala* principalmente flavonoides, ácidos fenólicos y triterpenos conservan su actividad antioxidante tras ser incorporados en la matriz polimérica de las nanofibras.

En la *figura 9* se muestra el porcentaje de inhibición del radical ABTS<sup>+</sup> durante un análisis cinético a diferentes tiempos (8 a 40 minutos), evaluando el comportamiento antioxidante por equivalente de Trolox (ET) por gramo, el



extracto acuoso liofilizado de *C. aequipetala*, las nanofibras cargadas con extracto y las nanofibras libres. Los resultados obtenidos evidencian que tanto el extracto puro como las nanofibras cargadas con extracto presentan una elevada capacidad antioxidante, con porcentajes de inhibición que van entre el 85% y 90% durante todo el intervalo de tiempo evaluado, esta actividad es comparable a la del estándar antioxidante Trolox, lo que indica que los compuestos bioactivos presentes en el extracto, principalmente polifenoles y flavonoides, mantienen su capacidad reductora incluso tras su incorporación en la matriz polimérica. Las nanofibras libres mostraron una capacidad antioxidante significativamente menor, con porcentajes de inhibición inferiores al 37% en todos los puntos evaluados. Esta diferencia sugiere que los polímeros empleados en la formulación (Eudragit EPO, PVA y quitosano) no poseen actividad antioxidante intrínseca relevante, confirmando que la capacidad de inhibición observada en las fibras cargadas se debe directamente a la presencia del extracto encapsulado. El extracto y las nanofibras cargadas mantienen una actividad antioxidante estable en el tiempo, lo que indica una liberación controlada y efectiva de los compuestos activos, este comportamiento es relevante desde el punto de vista biomédico, ya que una alta capacidad de neutralización de radicales libres puede contribuir a reducir el estrés oxidativo (un proceso implicado en la proliferación celular, daño al ADN y progresión tumoral en diversos tipos de cáncer, incluido el cáncer cervicouterino).

Valko et al., 2006 ha demostrado que, al disminuir el estrés oxidativo, se interrumpe la señalización celular mediada por especies reactivas de oxígeno (ROS) en células tumorales, lo que puede conducir a la inhibición de vías proliferativas como PI3K/Akt, MAPK y NF- $\kappa$ B, así como a la inducción de apoptosis y la reducción del potencial metastásico. Por tanto, un sistema bioactivo de nanofibras poliméricas cargadas con extracto de *C. aequipetala*, no solo actúa como vehículo de liberación controlada, sino también como agente terapéutico con propiedades potencialmente antitumorales.

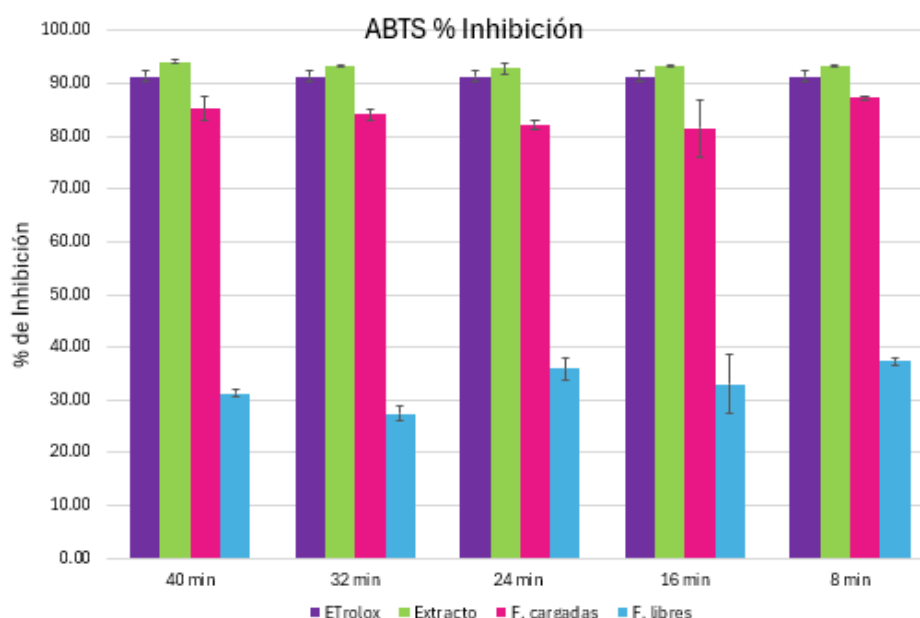


Figura 9. Porcentaje de inhibición y  $\mu\text{mol ET/g}$ , del extracto, fibras libres y cargadas con una cinética de tiempo de 8 min respectivamente.

#### 7.4.2 Ensayo DPPH:

Este método es especialmente sensible a compuestos lipofílicos, dado que el radical DPPH es soluble principalmente en solventes orgánicos como etanol y metanol, lo cual limita su aplicación en sistemas estrictamente acuosos (Brand-Williams et al., 1995).

En la *figura 10* se presentan los resultados del porcentaje de inhibición del radical DPPH a una concentración de 1000 ppm para el extracto de *Cuphea aequipetala*, las nanofibras libres y las nanofibras cargadas con extracto, se observa que el extracto puro presenta un valor de inhibición del 98%, lo cual indica una alta capacidad antioxidante, atribuida a la presencia de compuestos fenólicos y flavonoides con alta reactividad frente a radicales libres, esta eficacia sugiere que los metabolitos secundarios presentes en el extracto tienen una alta afinidad por radicales de naturaleza lipofílica como el DPPH, contribuyendo significativamente a la neutralización del estrés oxidativo. Sin embargo, tanto las nanofibras libres como las cargadas muestran un porcentaje de inhibición cercano al 50–55%, indicando una actividad antioxidante moderada, esta diferencia puede deberse, a que las muestras fueron preparadas en medio acuoso, donde la solubilidad del radical DPPH y su disponibilidad para

interactuar con los compuestos encapsulados es limitada; en el caso de las nanofibras cargadas, los compuestos activos se encuentran inmersos en una matriz polimérica (tipo matricial), lo que puede restringir el contacto directo e inmediato con el radical libre durante el tiempo de incubación.

A diferencia del ensayo ABTS, que permite evaluar la capacidad antioxidante en medios acuosos y orgánicos (Re et al., 1999), el ensayo DPPH tiene limitaciones en medios hidrofílicos, lo cual es relevante para interpretar los resultados obtenidos en formulaciones como las nanofibras desarrolladas, los resultados del DPPH reflejan la eficiencia del extracto libre, mientras que en el caso de las nanofibras, sugieren que los compuestos antioxidantes requieren una liberación prolongada o un medio de mayor afinidad para interactuar plenamente con este tipo de radical, el ensayo DPPH permite observar que el extracto de *C. aequipetala* posee una elevada actividad antioxidante, mientras que su incorporación en las nanofibras, reduce la interacción directa con el radical DPPH, al no detectarse eficientemente por la baja solubilidad en este medio y limitar la liberación efectiva de los antioxidantes contenidos en la matriz.

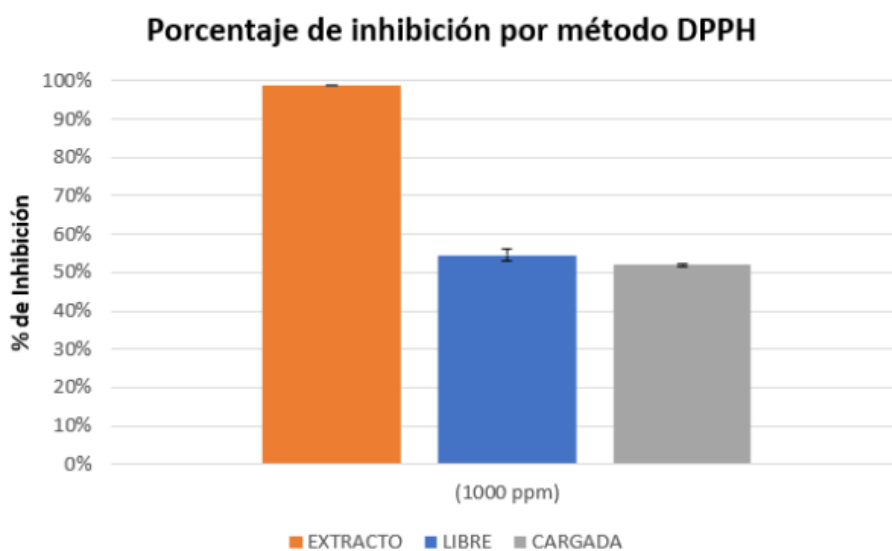


Figura 10. Porcentaje de Inhibición por método de DPPH.

### 7.5 Ensayo MTT:

La evaluación de la citotoxicidad se llevó a cabo mediante el ensayo colorimétrico MTT, el cual permite cuantificar la viabilidad celular a partir de la actividad mitocondrial, indicador del metabolismo celular y, por tanto, de la proliferación

(Mosmann, 1983). Se probaron diferentes concentraciones del extracto de *C. aequipetala* (42.5, 85, 170, 340 y 680 µg/ml), así como el efecto de las nanofibras libres y cargadas (el contenido de extracto en cada disco fue de 0.5 mg) a distintos tiempos de incubación (6 h, 24 h y 48 h), como se muestra en la *figura 11*. A las 6 horas de incubación, todas las concentraciones del extracto mostraron porcentajes de viabilidad celular superiores al 70%, valor que, de acuerdo con la norma ISO 10993-5:2009, se considera como no citotóxico, sin embargo, tras 24 y 48 horas, se observó una disminución significativa en la viabilidad celular, dependiente tanto de la dosis como del tiempo de incubación. Concentraciones iguales o superiores a 170 µg/ml redujeron la viabilidad por debajo del umbral del 50 %, clasificándose como citotóxicas, con diferencias estadísticamente significativas respecto al control ( $p < 0.0001$ ). Este comportamiento sugiere la presencia de compuestos bioactivos con efecto antiproliferativo, cuyo impacto se potencia con el tiempo de exposición celular. En cuanto a los efectos de las nanofibras, los resultados presentados en la *figura 12* muestran que tanto las fibras libres como las cargadas redujeron la viabilidad celular por debajo del 60 % en todos los tiempos evaluados, clasificándose como citotóxicas. Las fibras cargadas, en particular, presentaron un efecto más pronunciado, reduciendo la viabilidad por debajo del 50 %. Este efecto puede explicarse por la liberación del extracto desde la matriz polimérica, lo que prolonga la exposición de las células a los compuestos activos. Además, la composición polimérica (quitosano, PVA y Eudragit EPO) podría favorecer interacciones electrostáticas con las membranas celulares, especialmente debido a la carga positiva del quitosano y del Eudragit EPO, que interactúan con las superficies celulares cargadas negativamente, alterando su integridad, promoviendo la internalización de las fibras y desencadenando procesos de estrés celular (Chung et al., 2014).

La actividad antiproliferativa observada puede atribuirse, en parte, a la presencia de compuestos fenólicos y flavonoides detectados previamente en el extracto mediante análisis metabolómico. Entre ellos destacan la quercetina, astragalina y la epigallocatequina-3-galato (EGCG), moléculas ampliamente reconocidas por sus efectos citotóxicos. Se ha documentado que la quercetina, encapsulada en

nanopartículas poliméricas como PLGA o formulada en sistemas con polímeros metacrílicos, presenta mayor eficacia frente a células HeLa que su forma libre, promoviendo apoptosis a través de mecanismos dependientes de especies reactivas de oxígeno (ROS) y la vía mitocondrial (Yadav et al., 2022). De manera similar, la EGCG muestra efectos antiproliferativos cuando se administra en vehículos nanoestructurados, con mecanismos relacionados con la inhibición de la vía PI3K/Akt/mTOR y el aumento de ROS (Wang et al., 2023).

Los resultados obtenidos evidencian que el extracto de *Cuphea aequipetala* posee compuestos con propiedades antiproliferativas que se potencian al ser encapsulados en matrices poliméricas. Esta combinación entre la actividad intrínseca de los metabolitos del extracto y la funcionalidad de los polímeros empleados en la elaboración de nanofibras ofrece una alternativa prometedora para el desarrollo de sistemas terapéuticos dirigidos al tratamiento del cáncer cervicouterino.

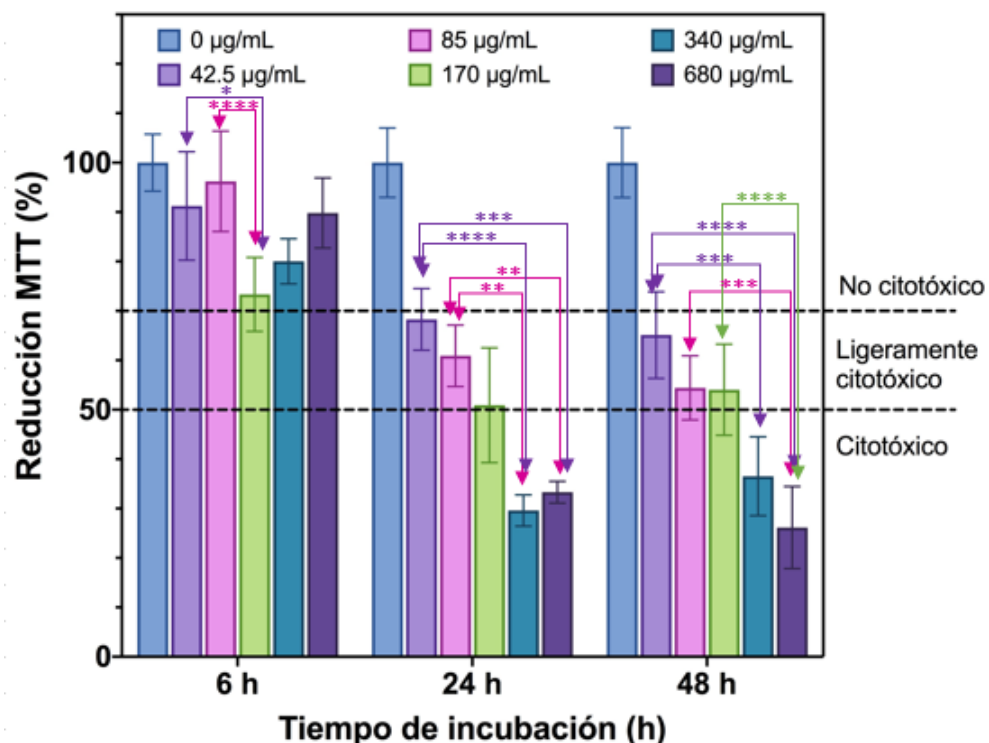


Figura 11. Ensayo MTT en Extracto de *Cuphea aequipetala* en línea celular HeLa a diferentes concentraciones y tiempos. Los (\*) indican  $p < 0.0001$  comparando las diferentes concentraciones con su mismo tiempo.

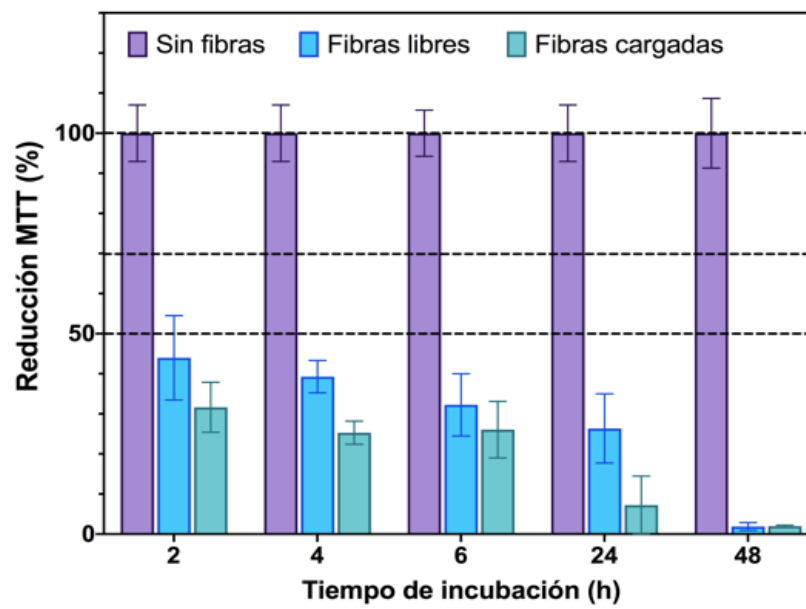


Figura 12. Ensayo MTT en Fibras libres y cargadas con extracto de *Cuphea aequipetala* en línea celular HeLa a diferentes tiempos.

## VIII. Conclusión

La presente investigación permitió validar que el diseño de nanofibras híbridas cargadas con extractos acuosos de *Cuphea aequipetala* representa una estrategia efectiva para potenciar la actividad biológica de compuestos naturales mediante un sistema de liberación controlada, la integración del extracto en una matriz polimérica de Eudragit EPO, PVA y quitosano no solo conservó sus propiedades antioxidantes, sino que presentó resultados evidentes frente a células HeLa, lo cual confirma la hipótesis planteada. Destacando que el análisis metabolómico del extracto acuoso de *C. aequipetala* constituye un aporte original en la literatura científica, ya que hasta la fecha no se han reportado estudios con esta profundidad sobre su perfil químico utilizando técnicas de UPLC-MS, asimismo, la formulación de nanofibras utilizando esta combinación específica de polímeros y extracto acuoso representa una innovación dentro del campo de la nanotecnología aplicada a la nanomedicina, dado que no existen antecedentes publicados que documenten el desarrollo de sistemas similares.

Este trabajo genera evidencia científica relevante que posiciona a las nanofibras poliméricas como plataformas prometedoras para la administración localizada de agentes terapéuticos derivados de plantas medicinales, los conocimientos generados sientan las bases para estudios posteriores enfocados en su validación in vivo y su posible aplicación clínica como alternativa terapéutica menos invasiva, específica y biocompatible para el tratamiento del cáncer cervicouterino.

## IX. Referencias Bibliográficas

- Abbondandolo, A. G., & Brewer, E. C. (2024). Assessing the degradation profiles of a thermoresponsive polyvinyl alcohol (PVA)-based hydrogel for biomedical applications. *Polymers for Advanced Technologies*, 35(2). <https://doi.org/10.1002/pat.6305>
- Acartürk, F., Parlatan, Z. I., & Saracoğlu, Ö. F. (2001). Comparison of vaginal aminopeptidase enzymatic activities in various animals and in humans. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 53(11), 1499–1504. <https://doi.org/10.1211/0022357011778034>
- Aguilar-Rodríguez, S., Echeveste-Ramírez, N. L., López-Villafranco, M. E., Aguilar-Contreras, A., Vega-Ávila, E., & Reyes-Chilpa, R. (2012). Etnobotánica, micrografía analítica de hojas y tallos y fitoquímica de *Cuphea aequipetala* Cav. (Lythraceae): Una contribución a la farmacopea herbolaria de los estados unidos mexicanos (FHEUM). *Boletín Latinoamericano y Del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 11(4).
- Alexander, N. J., Baker, E., Kaptein, M., Karck, U., Miller, L., Zampaglione, E., Wallach, E. E., & Editor, A. (2004). Why consider vaginal drug administration? *MODERN TRENDS FERTILITY AND STERILITY*, 82(1). <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2004>
- American Cancer Society. (2021). *tratamiento de cancer de cuello uterino*. <https://www.cancer.org/content/dam/CRC/PDF/Public/8936.00.pdf>
- American Cancer Society. (2024). *What Is Cancer?* <https://www.cancer.org/es/cancer/entendimiento-del-cancer/que-es-el-cancer.html>
- Aranaz, I., Alcántara, A. R., Civera, M. C., Arias, C., Elorza, B., Caballero, A. H., & Acosta, N. (2021). Chitosan: An overview of its properties and applications. In *Polymers* (Vol. 13, Issue 19). <https://doi.org/10.3390/polym13193256>
- Babu, S. (2018). *Evidence Based Management of Cervical Precancer Research & Reviews on Cervical Cancer*. [www.openaccessebooks.com](http://www.openaccessebooks.com)
- Bae, H. S., Haider, A., Selim, K. M. K., Kang, D. Y., Kim, E. J., & Kang, I. K. (2013). Fabrication of highly porous PMMA electrospun fibers and their



- application in the removal of phenol and iodine. *Journal of Polymer Research*, 20(7). <https://doi.org/10.1007/s10965-013-0158-9>
- Baskar, R., Lee, K. A., Yeo, R., & Yeoh, K. W. (2012). Cancer and radiation therapy: Current advances and future directions. In *International Journal of Medical Sciences* (Vol. 9, Issue 3, pp. 193–199). <https://doi.org/10.7150/ijms.3635>
- Beltrán, E., & González, H. (2016). Técnicas de cultivos celulares e ingeniería de tejidos. In *Madrid*, 2011.
- Bidram, E., Esmaeili, Y., Ranji-Burachaloo, H., Al-Zaubai, N., Zarrabi, A., Stewart, A., & Dunstan, D. E. (2019). A concise review on cancer treatment methods and delivery systems. In *Journal of Drug Delivery Science and Technology* (Vol. 54). Editions de Sante. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2019.101350>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). *Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity* (Vol. 28).
- Brigden, M., & Mckenzie, M. (2000). *Practical monitoring and management of therapy-related complications* (Vol. 46).
- Castaño, R., & Perrotta, D. M. (2017). *Manejo Terapéutico del Carcinoma de cuello uterino*.
- Castelo Fernández, B., Redondo Sánchez, A., Bernal Hertfelder, E., & Ostios García, L. (2017). Cáncer de cérvix. Cáncer de endometrio. *Medicine (Spain)*, 12(34), 2036–2046. <https://doi.org/10.1016/j.med.2017.05.003>
- Castroviejo Fernández, M. P. (2020). Microscopía Electrónica de Barrido (MEB). *Universidad de Burgos*.
- Cavanilles, A. J. (2013). Hierba del cáncer (*Cuphea aequipetala*). *INaturalist*.
- Chen, Q., Xu, L., Liang, C., Wang, C., Peng, R., & Liu, Z. (2016). Photothermal therapy with immune-adjuvant nanoparticles together with checkpoint blockade for effective cancer immunotherapy. *Nature Communications*, 7. <https://doi.org/10.1038/ncomms13193>
- Chung, S. K., Shin, G. H., Jung, M. K., Hwang, I. C., & Park, H. J. (2014). Factors influencing the physicochemical characteristics of cationic polymer-coated liposomes prepared by high-pressure homogenization. *Colloids and*

- Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 454(1), 8–15.  
<https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2014.03.095>
- Davenport, M., Heaton, N., & Superina, R. (2017). Surgery of the liver, bile ducts and pancreas in children. In *Surgery of the Liver, Bile Ducts and Pancreas in Children, Third Edition*. <https://doi.org/10.1201/9781315113791>
- de Castro de Pardo, C. (2006). PRUEBAS DE TAMIZAJE PARA DETERMINAR EFECTOS CITOTÓXICOS. *Fundación Universitaria San Martín*.  
[https://old.iupac.org/publications/cd/medicinal\\_chemistry/Practica-IV-2.pdf](https://old.iupac.org/publications/cd/medicinal_chemistry/Practica-IV-2.pdf)
- Deng, J., Cheng, W., & Yang, G. (2011). A novel antioxidant activity index (AAU) for natural products using the DPPH assay. *Food Chemistry*, 125(4), 1430–1435. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.10.031>
- Dhand, C., Dwivedi, N., Sriram, H., Bairagi, S., Rana, D., Lakshminarayanan, R., Ramalingam, M., & Ramakrishna, S. (2017). Nanofiber composites in drug delivery. In *Nanofiber Composites for Biomedical Applications* (pp. 199–223). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100173-8.00008-9>
- Duncan, R., & Gaspar, R. (2011). Nanomedicine(s) under the microscope. In *Molecular Pharmaceutics* (Vol. 8, Issue 6, pp. 2101–2141). <https://doi.org/10.1021/mp200394t>
- Dunn, W. B., & Lewis, M. R. (2018). The role of ultra performance liquid chromatography-mass spectrometry in metabolic phenotyping. In *The Handbook of Metabolic Phenotyping* (pp. 97–136). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812293-8.00003-7>
- El-Azazy, M., S. El-Shafie, A., & Al-Saad, K. (2023). Introductory Chapter: Infrared Spectroscopy - Principles and Applications. In *Infrared Spectroscopy - Perspectives and Applications*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.109139>
- Ewertz, M., Qvortrup, C., & Eckhoff, L. (2015). Chemotherapy-induced peripheral neuropathy in patients treated with taxanes and platinum derivatives. In *Acta Oncologica* (Vol. 54, Issue 5, pp. 587–591). Informa Healthcare. <https://doi.org/10.3109/0284186X.2014.995775>

- Faguet, G. B. (2015). A brief history of cancer: Age-old milestones underlying our current knowledge database. In *International Journal of Cancer* (Vol. 136, Issue 9, pp. 2022–2036). Wiley-Liss Inc. <https://doi.org/10.1002/ijc.29134>
- Fine-Shamir, N., & Dahan, A. (2019). Methacrylate-copolymer eudragit EPO as a solubility-enabling excipient for anionic drugs: Investigation of drug solubility, intestinal permeability, and their interplay. *Molecular Pharmaceutics*, 16(7). <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.9b00057>
- Gonçalves, J. C. R., & Sobral, M. V. (2020). Cultivo de células: da teoria à bancada. In *Editora UFPB*.
- Greiner, A., Wendorff, J. H., Yarin, A. L., & Zussman, E. (2006). Biohybrid nanosystems with polymer nanofibers and nanotubes. In *Applied Microbiology and Biotechnology* (Vol. 71, Issue 4, pp. 387–393). <https://doi.org/10.1007/s00253-006-0356-z>
- Haider, A., Haider, S., & Kang, I. K. (2018). A comprehensive review summarizing the effect of electrospinning parameters and potential applications of nanofibers in biomedical and biotechnology. In *Arabian Journal of Chemistry* (Vol. 11, Issue 8, pp. 1165–1188). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2015.11.015>
- Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of cancer: The next generation. In *Cell* (Vol. 144, Issue 5, pp. 646–674). <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>
- Hassanpour, S. H., & Dehghani, M. (2017a). Review of cancer from perspective of molecular. *Journal of Cancer Research and Practice*, 4(4), 127–129. <https://doi.org/10.1016/j.jcrpr.2017.07.001>
- Hassanpour, S. H., & Dehghani, M. (2017b). Review of cancer from perspective of molecular. *Journal of Cancer Research and Practice*, 4(4), 127–129. <https://doi.org/10.1016/j.jcrpr.2017.07.001>
- Hu, X., Liu, S., Zhou, G., Huang, Y., Xie, Z., & Jing, X. (2014). Electrospinning of polymeric nanofibers for drug delivery applications. In *Journal of Controlled Release* (Vol. 185, Issue 1, pp. 12–21). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2014.04.018>

- Hussain, A., & Ahsan, F. (2005). The vagina as a route for systemic drug delivery. In *Journal of Controlled Release* (Vol. 103, Issue 2, pp. 301–313). <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2004.11.034>
- Ipohorski, M., & Bozzano, P. (2013). *MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO*.
- Kemp, J. A., Shim, M. S., Heo, C. Y., & Kwon, Y. J. (2016). “Combo” nanomedicine: Co-delivery of multi-modal therapeutics for efficient, targeted, and safe cancer therapy. In *Advanced Drug Delivery Reviews* (Vol. 98, pp. 3–18). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2015.10.019>
- Kumar, A., Mansour, H. M., Friedman, A., & Blough, E. R. (2013). Nanomedicine in drug delivery. In *Nanomedicine in Drug Delivery*. <https://doi.org/10.1201/b14802>
- Lee, C. S., Ryan, E. J., & Doherty, G. A. (2014). Gastro-intestinal toxicity of chemotherapeutics in colorectal cancer: The role of inflammation. *World Journal of Gastroenterology*, 20(14), 3751–3761. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i14.3751>
- Leyva Morales, J. B., Calderón, R., García-Hernández, J., Palma, P., Bastidas-Bastidas, P. de J., Zambrano-Soria, M., Olmeda-Rubio, C., Romo-Gómez, C., Acevedo-Sandoval, O. A., & Camacho-López, C. (2024). Validation and application of quick polar pesticide (QuPPE) extraction and ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) to analyze perchlorate in vegetables from Mexico. *Revista Bio Ciencias*. <https://doi.org/10.15741/revbio.11.e1766>
- Li, S., Jiang, W., Zheng, C., Shao, D., Liu, Y., Huang, S., Han, J., Ding, J., Tao, Y., & Li, M. (2020). Oral delivery of bacteria: Basic principles and biomedical applications. In *Journal of Controlled Release* (Vol. 327, pp. 801–833). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2020.09.011>
- Mabasa, X. E., Mathomu, L. M., Madala, N. E., Musie, E. M., & Sigidi, M. T. (2021). Molecular Spectroscopic (FTIR and UV-Vis) and Hyphenated Chromatographic (UHPLC-qTOF-MS) Analysis and In Vitro Bioactivities of the *Momordica balsamina* Leaf Extract. *Biochemistry Research International*, 2021, 1–12. <https://doi.org/10.1155/2021/2854217>

- Madiyar, F., Suskavcevic, L., Daugherty, K., Weldon, A., Ghate, S., O'Brien, T., Melendez, I., Morgan, K., Boetcher, S., & Namilae, L. (2024). Optimizing Production, Characterization, and In Vitro Behavior of Silymarin–Eudragit Electrospayed Fiber for Anti-Inflammatory Effects: A Chemical Study. *Bioengineering*, 11(9), 864. <https://doi.org/10.3390/bioengineering11090864>
- Maity, A. R., & Stepensky, D. (2015). Delivery of drugs to intracellular organelles using drug delivery systems: Analysis of research trends and targeting efficiencies. In *International Journal of Pharmaceutics* (Vol. 496, Issue 2, pp. 268–274). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2015.10.053>
- Mallandrich, M. (2017). Estudio de formulaciones de ketorolaco de trometamina para aplicación sobre mucosas y piel. *Universidad de Barcelona*.
- Mašek, J., Mašková, E., Lubasová, D., Špánek, R., Raška, M., & Turánek, J. (2020). Nanofibers in Mucosal Drug and Vaccine Delivery. In *Nanomaterials - Toxicity, Human Health and Environment*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.82279>
- MatchTrial. (2020). La humanidad contra el Cáncer: orígenes e historia de la enfermedad. *Science4Tech*.
- Mirzaeei, S., Taghe, S., Asare-Addo, K., & Nokhodchi, A. (2021). Polyvinyl Alcohol/Chitosan Single-Layered and Polyvinyl Alcohol/Chitosan/Eudragit RL100 Multi-layered Electrospun Nanofibers as an Ocular Matrix for the Controlled Release of Ofloxacin: an In Vitro and In Vivo Evaluation. *AAPS PharmSciTech*, 22(5). <https://doi.org/10.1208/s12249-021-02051-5>
- Mohammad, M. N., & Khan, R. (2014). *Ultra Performance Liquid Chromatography Mass Spectrometry Evaluation and Applications in Food Analysis*.
- Moran García, R. S., & Quintero Soto, M. L. (2012). Cervical cancer in Mexico and importance of sex education for early prevention in young people and rural population. *Medwave*, 12(07), e5453–e5453. <https://doi.org/10.5867/medwave.2012.07.5453>
- Mosmann, T. (1983). Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays. In *Journal of Immunological Methods* (Vol. 65).

- Mura, S., & Couvreur, P. (2012). Nanotheranostics for personalized medicine. In *Advanced Drug Delivery Reviews* (Vol. 64, Issue 13, pp. 1394–1416). <https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.06.006>
- Murthy, S. K. (2007). Nanoparticles in modern medicine: state of the art and future challenges. *International Journal of Nanomedicine*, 2(2), 129–141.
- National Cancer Institute. (2021). What Is Cancer? *Nacional Cancer Institute*.
- NCI. (2023a). El virus del papiloma humano (VPH) y el cáncer. *Nacional Cancer Institute*.
- NCI. (2023b). ¿Qué es el cáncer de cuello uterino? *Nacional Cancer Institute*.
- Pakravan, M., Heuzey, M. C., & Ajji, A. (2011). A fundamental study of chitosan/PEO electrospinning. *Polymer*, 52(21), 4813–4824. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2011.08.034>
- Park, J. C., Ito, T., Kim, K. O., Kim, K. W., Kim, B. S., Khil, M. S., Kim, H. Y., & Kim, I. S. (2010). Electrospun poly(vinyl alcohol) nanofibers: Effects of degree of hydrolysis and enhanced water stability. *Polymer Journal*, 42(3), 273–276. <https://doi.org/10.1038/pj.2009.340>
- Porfiryeva, N. N., Nasibullin, S. F., Abdullina, S. G., Tukhbatullina, I. K., Moustafine, R. I., & Khutoryanskiy, V. V. (2019). Acrylated Eudragit® E PO as a novel polymeric excipient with enhanced mucoadhesive properties for application in nasal drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 562, 241–248. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.03.027>
- Punte, Javier., & Velasco, G. (2017). ¿Qué es el cáncer y cómo se desarrolla? - SEOM: Sociedad Española de Oncología Médica © 2019. In *Sociedad Española De Oncología Médica(SEOM)*.
- Rahimi, M., Jafari, A., Tabaei, S. J. S., Rahimi, M., Taranejoo, S., & Ghanimatdan, M. (2020). *HERBAL EXTRACT INCORPORATED CHITOSAN BASED NANOFIBERS AS A NEW STRATEGY FOR SMART ANTICANCER DRUG DELIVERY SYSTEM: AN IN VITRO MODEL*.
- Ramesh, V. (2019). Biomolecular and Bioanalytical Techniques. In *Biomolecular and Bioanalytical Techniques*. <https://doi.org/10.1002/9781119483977>
- Ramsey, P. S., Ogburn, P. L., Harris, D. Y., Heise, R. H., & Ramin, K. D. (2002). Effect of vaginal pH on efficacy of the dinoprostone gel for cervical

- ripening/labor induction. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 187(4), 843–846. <https://doi.org/10.1067/mob.2002.126987>
- Razavi, M. S., Abdollahi, A., Malek-Khatibi, A., Ejarestaghi, N. M., Atashi, A., Yousefi, N., Ebrahimnejad, P., Elsayy, M. A., & Dinarvand, R. (2023). Recent advances in PLGA-based nanofibers as anticancer drug delivery systems. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 85, 104587. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2023.104587>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). *ANTIOXIDANT ACTIVITY APPLYING AN IMPROVED ABTS RADICAL CATION DECOLORIZATION ASSAY*.
- Romero-Romero, L., Estefanía, V., & González, P. (2021). *161 ¿Qué es el cáncer? What is cancer?*
- Rosen, G. (2020a). Quimioterapia para cáncer de cuello uterino. *American Cancer Society*. <https://www.cancer.org/es/cancer/tipos/cancer-de-cuello-uterino/tratamiento/quimioterapia.html>
- Rosen, G. (2020b). Radioterapia para cáncer de cuello uterino. In *American Cancer Society*.
- Safari, J., & Zarnegar, Z. (2014). Advanced drug delivery systems: Nanotechnology of health design A review. In *Journal of Saudi Chemical Society* (Vol. 18, Issue 2, pp. 85–99). <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2012.12.009>
- Sagretín, M. E. (n.d.). *Los cultivos celulares y sus aplicaciones I (cultivos de células animales)*. [www.corning.com](http://www.corning.com).
- Salamat-Miller, N., Chittchang, M., & Johnston, T. P. (2005). The use of mucoadhesive polymers in buccal drug delivery. In *Advanced Drug Delivery Reviews* (Vol. 57, Issue 11, pp. 1666–1691). <https://doi.org/10.1016/j.addr.2005.07.003>
- Shahriar, S. M. S., Mondal, J., Hasan, M. N., Revuri, V., Lee, D. Y., & Lee, Y. K. (2019). Electrospinning nanofibers for therapeutics delivery. In *Nanomaterials* (Vol. 9, Issue 4). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/nano9040532>

- Simona, M., Julien, N., & Patrick, C. (2013). Stimuli-responsive nanocarriers for drug delivery. *Nature Materials*, 991–1003.
- Singh, B., Kim, K., & Park, M.-H. (2021). On-Demand Drug Delivery Systems Using Nanofibers. *Nanomaterials*, 11(12), 3411. <https://doi.org/10.3390/nano11123411>
- Skoog, D. A., Holler, Fj., & Crouch, S. R. (2008). *Principios de análisis instrumental*. [www.FreeLibros.me](http://www.FreeLibros.me)
- Sonia, T. A., & Sharma, C. P. (2011). Chitosan and its derivatives for drug delivery perspective. *Advances in Polymer Science*, 243(1). [https://doi.org/10.1007/12\\_2011\\_117](https://doi.org/10.1007/12_2011_117)
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 71(3), 209–249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- Torchilin, V. P. (2014). Multifunctional, stimuli-sensitive nanoparticulate systems for drug delivery. In *Nature Reviews Drug Discovery* (Vol. 13, Issue 11, pp. 813–827). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nrd4333>
- Tovar del Río, J. (2013). DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE POR DPPH Y ABTS. *Universidad Tecnológica de Pereira*.
- Uscanga Palomeque, A. C. (2014). *EFEECTO CITOTÓXICO DE LOS EXTRACTOS ACUOSO Y METANÓLICO DE Cuphea aequipetala, SOBRE LÍNEAS CELULARES DE CÁNCER Y UN MODELO MURINO*.
- Uscanga-Palomeque, A. C., Zapata-Benavides, P., Saavedra-Alonso, S., Zamora-Ávila, D. E., Franco-Molina, M. A., Arellano-Rodríguez, M., Manilla-Muñoz, E., Martínez-Torres, A. C., Trejo-Ávila, L. M., & Rodríguez-Padilla, C. (2019). Inhibitory effect of cuphea aequipetala extracts on murine B16F10 melanoma in vitro and in vivo. *BioMed Research International*, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/8560527>
- Uson. (2023). *tecnica de electrohilado*.
- Valko, M., Rhodes, C. J., Moncol, J., Izakovic, M., & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. In



- Chemico-Biological Interactions* (Vol. 160, Issue 1, pp. 1–40). Elsevier Ireland Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2005.12.009>
- Waizel-Bucay, J., Martínez-Porcayo, G., Villarreal-Ortega, M. L., Alonso-Cortés, D., & Pliego-Castañeda, A. (2003). *ESTUDIO PRELIMINAR ETNOBOTÁNICO, FITOQUÍMICO, DE LA ACTIVIDAD CITOTÓXICA Y ANTIMICROBIANA DE CUPHEA AEQUIPETALA CAV. (LYTHRACEAE)* (Vol. 15).
- Wang, G., Wang, J., & Momeni, M. R. (2023). Epigallocatechin-3-gallate and its nanoformulation in cervical cancer therapy: the role of genes, MicroRNA and DNA methylation patterns. *Cancer Cell International*, 23(1), 335. <https://doi.org/10.1186/s12935-023-03161-9>
- Weng, L., & Xie, J. (2015). Smart Electrospun Nanofibers for Controlled Drug Release: Recent Advances and New Perspectives. *Current Pharmaceutical Design*, 21(15). <https://doi.org/10.2174/1381612821666150302151959>
- Wong-Paz, J. E., Contreras-Esquivel, J. C., Rodríguez-Herrera, R., Carrillo-Inungaray, M. L., López, L. I., Nevárez-Moorillón, G. V., & Aguilar, C. N. (2015). Total phenolic content, in vitro antioxidant activity and chemical composition of plant extracts from semiarid Mexican region. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 8(2), 104–111. [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(14\)60299-6](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(14)60299-6)
- Yadav, N., Tripathi, A. K., Parveen, A., Parveen, S., & Banerjee, M. (2022). PLGA-Quercetin Nano-Formulation Inhibits Cancer Progression via Mitochondrial Dependent Caspase-3,7 and Independent FoxO1 Activation with Concomitant PI3K/AKT Suppression. *Pharmaceutics*, 14(7). <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14071326>
- Yu, D.-G., Zhu, L.-M., White, K., & Branford-White, C. (2009). Electrospun nanofiber-based drug delivery systems. *Health*, 01(02), 67–75. <https://doi.org/10.4236/health.2009.12012>
- Zamani, M., Prabhakaran, M. P., & Ramakrishna, S. (2013). Advances in drug delivery via electrospun and electrosprayed nanomaterials. In *International Journal of Nanomedicine* (Vol. 8, pp. 2997–3017). <https://doi.org/10.2147/IJN.S43575>