

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE INGENIERÍA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BÁSICAS



Síntesis y caracterización de un nanocompuesto pH-sensible basado en nanopartículas de óxido de cobre y poli(4-vinilpiridina) para su potencial uso como nanoacarreador de fármacos anticancerígenos.

Por:

MARÍA FERNANDA QUINTERO PORRAS

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

Saltillo, Coahuila, México

Junio 2026

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE INGENIERÍA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BÁSICAS

Síntesis y caracterización de un nanocompuesto pH-sensible basado en nanopartículas de óxido de cobre y poli(4-vinilpiridina) para su potencial uso como nanoacarreador de fármacos anticancerígenos.

Por:

MARÍA FERNANDA QUINTERO PORRAS

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

Aprobada por el Comité de Asesoría:



Dra. Sonia Noemí Ramírez Barrón
Asesora



Dr. Alberto Sandoval Rangel
Coasesor



Dra. Rebeca Betancourt Galindo
Asesora principal externa



M.C. Daniela Nataly Díaz Zepeda
Coasesora externa

Saltillo, Coahuila, México

Junio 2026

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE INGENIERÍA
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BÁSICAS

Síntesis y caracterización de un nanocompósito pH-sensible basado en nanopartículas de óxido de cobre y poli(4-vinilpiridina) para su potencial uso como nanoacarreador de fármacos anticancerígenos.

Por:

MARÍA FERNANDA QUINTERO PORRAS

TESIS

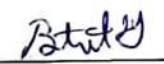
Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

Aprobada por el jurado examinador:



Dra. Sonia Noemí Ramírez Barrón
Presidente



Dra. Rebeca Betancourt Galindo
Vocal



Dr. Alberto Sandoval Rangel
Vocal



M.C. Daniela Nataly Díaz Zepeda
Vocal Suplente





M.C. Sergio Sánchez Martínez
Coordinador de la División de Ingeniería

Saltillo, Coahuila, México

Junio 2026

Declaración de no plagio

Agradecimientos

Al centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA) y a la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN) por brindarme la oportunidad de realizar este trabajo.

A la Dra. Sonia Noemí Ramírez Barrón, por su apoyo constante y por estar al pendiente de mí durante todo este proceso.

A la Dra. Rebeca Betancourt Galindo, por darme la oportunidad de formar parte de su grupo de trabajo y por su atención en cada etapa del proyecto.

A la M.C. Daniela Nataly Díaz Zepeda, por todo lo que me enseñó, por su paciencia y por dedicarme parte de su tiempo. Gracias por guiarme y confiar en mí para llevar a cabo este proyecto.

Al Dr. Héctor Iván Melendez Ortíz, por su guía y asesoramiento en puntos clave del proyecto.

A la Q.F.B Bertha Alicia Puente Urbina, por su asistencia técnica y capacitación en el uso de equipos.

A la M.C Gladys Cortés Mazatán y el Dr. René Darío Peralta, por su disposición, asistencia y capacitación para la caracterización por DLS, potencial Z y UV-Vis.

Al personal del Laboratorio Central de Instrumentación Analítica, por su apoyo en la realización de caracterización térmica y facilidades para el uso del equipo de espectroscopía infrarrojo.

A mi familia, por su apoyo incondicional y por motivarme a lograr todas mis metas. Por enseñarme a salir adelante y llenarme de cariño todos los días.

Dedicatoria

Este trabajo se lo dedicó principalmente a mi mamá **Norma Elizabeth Porras De La Rosa**, quien me enseñó a salir adelante y a luchar arduamente por todas y cada una de mis metas. Por siempre llenarnos de amor y hacernos los niños más felices del mundo.

A mi tía **Karla Yvette Porras De La Rosa**, por cuidar de nosotros, sacarnos adelante y enseñarnos a siempre defender quienes somos.

A mis abuelos **Manuel Porras Y Garza, María Del Rosario de la Rosa Valdés, Morayma Isolina Zertuche Flores y Fernando David Quintero Álvarez**, por siempre estar a mi lado y llenarme de amor.

A mi hermano **Juan Carlos Quintero Porras**, por crecer a mi lado, por ser la persona más importante de mi vida y por acompañarme en los buenos y malos momentos.

A **Chumina**, por alegrar todos y cada uno de mis días.

A mis **amigos**, por hacerme crecer, reír y vivir.

Índice

Índice.....	7
Índice de figuras	9
Indice de tablas	11
Resumen	12
Introducción.....	13
Capítulo I- Marco Teórico	15
1.1 Panorama General del Cáncer	15
1.2 Terapias contra el cáncer	17
1.2.1 Tratamientos convencionales	17
1.2.2 La quimioterapia	18
1.3 Tratamientos dirigidos contra el cáncer	19
1.3.1 Microambiente tumoral.	20
1.3.2 Nanosistemas para liberación dirigida.....	21
1.4 Nanopartículas de óxidos metálicos incorporadas en nanoacarreadores. 23	
1.5 Polímeros sensibles a estímulos usados en nanoacarreadores.	25
1.6 Nanoacarreadores híbridos.....	27
Capítulo II- Antecedentes	29
2. 1 Nanocompuestos para la liberación de fármacos a base de NPs metálicas y polímeros pH-sensibles.....	29
2.2 Nanocompuestos para la liberación de fármacos a base de NPs de CuO y polímeros pH sensibles.	30
2.3 Nanocompuestos para la liberación de fármacos anticancerígenos a base de P4VP y NPs inorgánicas.	32
Capítulo III- Justificación	35
Capítulo IV- Hipótesis	36
Capítulo V- Objetivos.....	37
5.1 Objetivo general	37
5.2 Objetivos específicos	37
Capítulo VI - Metodología.....	38
6.1 Reactivos y materiales	38
6.2 Síntesis de NPs de CuO	38
6.3 Funcionalización de NPs mediante agente organosilano (VTMS)	39

6.4 Síntesis de nanocompuestos NPs CuO@VS-g-P4VP	39
6.5 Caracterización de nanocompuestos	39
6.5.1 Difracción de Rayos X (DRX).....	39
6.5.2 Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR)	40
6.5.3 Análisis Termogravimétrico (TGA)	40
6.5.4 Esparcimiento Dinámico de Luz (DLS) y Potencial Zeta (ζ)	40
6.5.5 Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM)	40
6.6 Determinación de la capacidad de carga de DOX	40
6.7 Ensayos de Liberación <i>in vitro</i> de DOX.....	41
6.8 Modelado de la cinética de liberación	42
6.9 Pruebas de citotoxicidad <i>in vitro</i>	43
Capítulo VII- Resultados y Discusión	45
7.1 Síntesis y funcionalización de NPs de CuO	45
7.2 Síntesis de nanocompuestos NPs CuO@VS-g-P4VP	47
7.2.1 Efecto de la variación de parámetros de reacción sobre el porcentaje de injerto en NPs CuO@VS-g-P4VP	48
7.2.1.1 Efecto de la concentración de monómero.	48
7.2.1.2 Efecto de la concentración del entrecruzante	51
7.2.1.3 Efecto de la variación del tiempo.....	52
7.2.1.4 Tamaño y estabilidad coloidal	54
7.3 Determinación de la capacidad de carga de DOX	58
7.4 Ensayos de Liberación <i>in vitro</i> de DOX.....	60
7.5 Modelado de la cinética de liberación	63
7.6 Pruebas de citotoxicidad <i>in vitro</i>	65
Capítulo VIII- Conclusiones y Perspectiva a futuro	69
Capítulo IX- Referencias Bibliográficas	71
Capítulo X-Anexos	83

Índice de figuras

Figura 1. Estructura molecular de la Doxorubicina (DOX).....	19
Figura 2. Interacción de nanosistemas con el microambiente tumoral para la liberación controlada de fármacos. Modificado de [54].	21
Figura 3. Representación esquemática de los diferentes tipos de nanosistemas. Modificado de [88].	22
Figura 4. Representación esquemática del mecanismo de cuproptosis a nivel mitocondrial. Modificado de [67].	24
Figura 5. Esquema del mecanismo de liberación dirigida de fármacos mediante nanoacarreadores sensibles al pH en el microambiente tumoral. Modificado de [84].	26
Figura 6. Representación esquemática de los tipos de nanoacarreadores según su composición. Modificado de [127].	27
Figura 7. Curva de calibración de doxorubicina empleada para el cálculo de la capacidad de carga del nanocompósito	41
Figura 8. Patrón de difracción de rayos X (DRX) de las NPsCuO.	45
Figura 9. a) Micrografía TEM de las NPsCuO sintetizadas. b) Histograma de distribución de tamaño de partícula de las NPsCuO.	46
Figura 10. Espectros correspondientes a NPsCuO y NPsCuO@VS.	47
Figura 11. Mecanismo de síntesis de NPsCuO@VS-g-P4VP mediante polimerización por radicales libres.	48
Figura 12. Espectros FTIR correspondientes a los nanocompósitos sintetizados a diferente concentración de monómero.	49
Figura 13. Análisis termogravimétrico de los nanocompósitos sintetizados a diferentes concentraciones de monómero.....	50
Figura 14. Espectros FTIR correspondientes a los nanocompósitos sintetizados a diferente concentración de entrecruzante.	51
Figura 15. Análisis termogravimétrico de los nanocompósitos sintetizados a diferentes concentraciones de entrecruzante.....	52
Figura 16. Espectros FTIR correspondientes a los nanocompósitos sintetizados a diferentes tiempos de reacción.....	53
Figura 17. Análisis termogravimétrico de los nanocompósitos sintetizados a diferentes tiempos de reacción.....	54
Figura 18. Distribución del Dh de las NPsCuO@VS-g-P4VP _{5%NMBA} determinadas por DLS.	56
Figura 19. Distribución del Dh de las NPsCuO@VS-g-P4VP _{10%NMBA} determinadas por DLS.	56

Figura 20. Potencial zeta (ζ) en función del pH para NPsCuO@VS-g-P4VP _{5%} NMBA.	57
Figura 21. Potencial zeta (ζ) en función del pH para NPsCuO@VS-g-P4VP _{10%} NMBA.	58
Figura 22. Cinética de carga de DOX para NPsCuO@VS-g-P4VP _{5%,10%} NMBA.	59
Figura 23. Representación esquemática del mecanismo de carga y liberación del fármaco, donde los grupos piridina en medio ácido favorecen la liberación controlada.....	60
Figura 24. Cinética de liberación in vitro de DOX en NPsCuO@VS-g-P4VP _{5%} NMBA a diferentes condiciones de pH.	61
Figura 25. Cinética de liberación in vitro de DOX en NPsCuO@VS-g-P4VP _{10%} NMBA a diferentes condiciones de pH.	62
Figura 26. Curvas de viabilidad celular en función de la concentración de los tratamientos evaluados mediante el ensayo MTT para CCD Sk 1132.	66
Figura 27. Curvas de viabilidad celular en función de la concentración de los tratamientos evaluados mediante el ensayo MTT para MDA-MB-231.	67

Indice de tablas

Tabla 1. Nanosistemas en fase clínica o aprobados para tratamiento anticancerígeno.[52], [53].....	22
Tabla 2. Diámetro hidrodinámico (Dh), índice de polidispersidad (PDI) y ζ de las NPs CuO y NPsCuO@VS-g-P4VP con diferente concentración de entrecruzante.	55
Tabla 3. Cinética de liberación en diferentes modelos matemáticos para NPsCuO@VS-g-P4VP _{5%NMBA}	64
Tabla 4. Cinética de liberación en diferentes modelos matemáticos para NPsCuO@VS-g-P4VP _{10%NMBA}	64
Tabla 5. Comparativa de valores CI ₅₀ (µg/mL) de NPsCuO, DOX libre, NPsCuO@VS-g-P4VP _{5%,10%NMBA} y NPsCuO@VS-g-P4VP _{5%, 10%NMBA} -DOX en líneas celulares sanas y tumorales.	68

Resumen

Los nanoacarreadores basados en polímeros estímulo-responsivos y nanopartículas de óxidos metálicos, han emergido como una alternativa para el desarrollo de nuevos tratamientos anticancerígenos. En el presente trabajo se estudió la síntesis de un nanohíbrido constituido por nanopartículas de óxido de cobre (NPsCuO) injertadas con poli(4-vinilpiridina) (P4VP) y su evaluación como acarreador de un fármaco anticancerígeno. El injerto de P4VP se llevó a cabo mediante polimerización por radicales libres. El nanohíbrido obtenido fue caracterizado por difracción de rayos X (DRX), espectroscopia de infrarrojo (FTIR), análisis termogravimétrico (TGA), dispersión dinámica de luz (DLS) y potencial Z (ζ). Se estudió el efecto de diferentes parámetros de reacción sobre la cantidad de P4VP injertado, como: concentración del monómero (75, 100 y 150 mM), cantidad de entrecruzante (0, 5 y 10%) y tiempo de reacción (4, 8, 16 y 24 h). Se evaluaron la capacidad de carga del nanocompósito y la eficiencia de liberación a diferentes valores de pH (7.4 y 5.8 y 4.6), utilizando doxorubicina (DOX) como fármaco modelo. Posteriormente, los perfiles se ajustaron a modelos matemáticos para encontrar el mecanismo físico de liberación. Adicionalmente, se llevaron a cabo ensayos de citotoxicidad *in vitro* en células sanas (CCD1132Sk) y cancerosas (MDA-MB-231). Los resultados muestran que la concentración de entrecruzante es un factor crucial para definir el grado de injerto del nanocompósito, con porcentajes de P4VP que variaron de 36% hasta 55%. La respuesta al pH también varió con la cantidad de agente entrecruzante, encontrando un pKa de 5.3 y 4.58, para las muestras sintetizadas con 5 y 10% de NMBA, respectivamente. La cantidad máxima de fármaco cargado fue de 1.034×10^{-2} mg DOX/mg de nanohíbrido, presentada por el nanocompósito con mayor cantidad de entrecruzante. Se observó una mayor eficiencia de liberación a pH de 4.6, con una liberación sostenida durante 48 h. Comprobando el comportamiento pH-sensible de la matriz polimérica del nanocompósito. Finalmente, en los estudios de citotoxicidad *in vitro* el nanocompósito sintetizado con 5% de NMBA y cargado con DOX mostró un IC₅₀ mucho menor en comparación con la DOX libre, evidenciando la potencial acción sinérgica entre el fármaco y el CuO.

Introducción

En la actualidad, el cáncer es una de las principales causas de muerte a nivel mundial. En 2022 se reportaron 20 millones de casos nuevos y aproximadamente 10 millones de muertes causadas por cáncer [1]. A raíz de ello, la urgencia por desarrollar tratamientos alternativos ha aumentado de forma significativa. En México, esta problemática también está presente, ya que según lo registrado por el INEGI durante el 2023 el 11.4% de las defunciones se atribuyeron al cáncer [2]. Esta situación representa un reto para el sector salud, ya que su prevención y tratamiento sigue siendo un desafío.

En los últimos años, las opciones para combatir el cáncer han sido limitadas a tratamientos convencionales como la cirugía, la radioterapia y la quimioterapia; siendo esta última la más empleada. A pesar de los avances, estos tratamientos siguen enfrentando diversos obstáculos como: efectos secundarios incapacitantes por daño a células sanas y resistencia farmacológica. Estas desventajas afectan la eficiencia de los tratamientos a corto y largo plazo [3], por lo que la búsqueda y desarrollo de nuevas herramientas terapéuticas resulta cada vez más importante.

Una de las alternativas emergentes son los nanomateriales, los cuales ofrecen propiedades únicas que mejoran la eficiencia y seguridad terapéutica. Su tamaño en el orden nanométrico, gran área superficial y la capacidad de ser diseñadas para la liberación dirigida les confieren propiedades únicas frente a los tratamientos convencionales [4]. El uso de nanotecnología juega un papel importante en los sistemas de liberación controlada, destacando ventajas como el incremento en la especificidad, aumento de solubilidad, mejora de la biocompatibilidad y disminución en la toxicidad sistémica [5], reduciendo de forma significativa el impacto negativo sobre la calidad de vida del paciente.

Los nanosistemas para liberación de fármacos pueden clasificarse en dos grupos según su composición. Las nanoestructuras orgánicas incluyen materiales poliméricos, micelas, liposomas, dendrímeros, entre otros. Por otro lado, las nanoestructuras inorgánicas comprenden nanopartículas de óxidos metálicos, nanopartículas de sílica mesoporosa, nanotubos de carbono, entre otros [6]. Dentro

de estos nanosistemas destacan aquellos basados que son híbridos, los cuales integran las propiedades de diferentes nanomateriales con el objetivo de mejorar la liberación controlada y dirigida de fármacos hacia el tejido tumoral [7].

En el presente trabajo se busca sintetizar un nanocompósito híbrido constituido por nanopartículas de óxido de cobre y funcionalizadas con viniltrimetoxisilano (VTMS). Posteriormente, serán polimerizadas mediante una reacción de polimerización por radicales libres, utilizando poli(4-vinilpiridina), un polímero pH-sensible. Estos sistemas serán evaluados como plataformas para la liberación controlada de doxorubicina (DOX), mediante el análisis de la capacidad de carga y el perfil de liberación en función del pH a través de ensayos *in vitro*, con el fin de determinar su potencial como nanoacarreadores de fármacos anticancerígenos.

Capítulo I- Marco Teórico

1.1 Panorama General del Cáncer

El cáncer es una enfermedad crónica caracterizada por el crecimiento y la división celular descontrolada a partir de una célula atípica con gran capacidad de propagación [8](neoplasia). Hoy en día, se sabe que la mutación y desregularización de genes encargados de controlar la apoptosis y reparación de ADN contribuyen de manera muy importante al desarrollo de esta enfermedad [9]. Asimismo, el cáncer representa una de las principales causas de muerte a nivel mundial. De acuerdo con los datos reportados en 2020 por la Organización Mundial de la Salud (OMS), ocupa el segundo lugar entre las causas de mortalidad a nivel global con aproximadamente 10 millones de muertes por año [10].

El cáncer no es un padecimiento que pueda ser descrito de manera única, más bien se considera un conjunto de afecciones cuya denominación depende de varios factores [11]. La heterogeneidad tumoral representa un desafío en el tratamiento del cáncer, ya que limita la capacidad de obtener diagnósticos precisos en etapas tempranas [12]. Por consiguiente, la identificación y caracterización precisa de sus subtipos resultan fundamentales para optimizar la eficiencia terapéutica[13] .

De acuerdo con el tipo de tejido afectado, se pueden clasificar los distintos tipos de cáncer de la siguiente manera:

Linfomas: Inician en el sistema linfático y en su red de glándulas y vasos sanguíneos que contienen células inmunitarias. Se subdividen en linfoma de Hodgkin y linfoma de no Hodgkin[14]. El linfoma de Hodgkin se caracteriza por la presencia de células Reed-Sternberg derivadas de linfocitos B [15], mientras que los linfomas no Hodgkin comprenden neoplasias originadas a partir de linfocitos B, T o células NK [16].

Sarcomas: Se originan en los tejidos conectivos que sostienen, unen brindan soporte al cuerpo. Es decir, en nervios, tendones, vasos sanguíneos, huesos, músculos o cartílagos [17].

Carcinomas: Afectan al tejido epitelial encargado de recubrir los órganos internos. Se presenta un crecimiento tumoral sólido, incluyendo: cáncer de pulmón, próstata, mama, entre otros [18].

Los carcinomas representan aproximadamente el 90% de los tipos de cáncer y se caracterizan por ser tumores sólidos que generalmente se diseminan a través del sistema linfático para generar metástasis [19]. Estas células tumorales pueden modificar el ambiente en el que se desarrollan, creando condiciones que favorecen su proliferación [20]. Esta capacidad de producir metástasis incrementa su peligrosidad, ya que algunas células permanecen latentes incluso después del tratamiento, lo que contribuye a la resistencia terapéutica y a un mayor riesgo a recaída [21].

Entre los carcinomas con más recurrencia en la población se encuentra el cáncer de mama. A nivel mundial, el cáncer de mama es el tipo de cáncer más frecuente y la causa más común de muerte entre las mujeres, especialmente mayores a 70 años, evidenciando un incremento progresivo de la mortalidad conforme avanza la edad [22], [23]. A su vez, este tipo de cáncer presenta cuatro distintos subtipos moleculares basados en receptores hormonales: luminal A, luminal B, HER2-positivo y triple negativo.

El tipo luminal de cáncer de mama comprende el 60% de los casos de cáncer de mama [24]. El subtipo luminal A se caracteriza por la expresión de receptores hormonales, principalmente receptores de estrógeno (ER) y receptores de progesterona (PR); a este subtipo también se le conoce como ER-positivo. Por otro lado, el subtipo luminal B también expresa ER, pero contiene niveles reducidos de PR, y en algunos casos presenta receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano (HER2) [25]. Además, presenta un mayor índice de proliferación en comparación con luminal A. En ambos casos el tratamiento más utilizado es la quimioterapia y terapia hormonal [26].

Otro de los subtipos es HER2-positivo, el cual se presenta debido a la sobreexpresión de esta proteína causando la división descontrolada de las células y se caracteriza por la ausencia de otros receptores hormonales [27]. Este subtipo

crece con mayor velocidad en comparación con los de tipo luminal, volviéndolo más agresivo. El tratamiento utilizado para este subtipo son anticuerpos monoclonales, sin embargo, solo un tercio de los pacientes responden a este tipo de terapias [28].

Por último, encontramos el cáncer de mama triple negativo (CMTN) este subtipo describe un grupo de tumores que se unifican debido a su falta de expresión de receptores ER y PR, así como la falta de sobreexpresión de HER2 [29]. Debido a estas características, su tratamiento representa el mayor desafío, posicionándolo con los peores pronósticos y las tasas de supervivencia más baja en comparación con el resto de los subtipos [30].

Para el tratamiento del CMTN, se emplean diversas estrategias terapéuticas según el estado clínico del paciente. En etapas tempranas, los tratamientos basados en cirugía son la primera opción. Por otro lado, para la etapa metastásica, las terapias sistemáticas basadas en quimioterapia continúan siendo la opción preferida. Sin embargo, existe una serie de limitaciones asociadas a dicho esquema de tratamiento [31].

1.2 Terapias contra el cáncer

1.2.1 Tratamientos convencionales

Los tratamientos anticancerígenos convencionales incluyen cirugía, radioterapia, quimioterapia, terapia hormonal y, de manera más reciente, inmunoterapia. La elección depende del tipo de tumor, la localización, la etapa clínica y la condición del paciente. Aunque en algunos casos estos tratamientos pueden resultar efectivos, enfrentan desventajas ligadas a la baja tasa de eliminación de células malignas, en comparación con el tejido sano afectado [32]. Además, ocasionan efectos secundarios graves en tejidos y órganos sanos [33].

La primera estrategia de ataque contra tumores sólidos es la cirugía. Con el paso de los años, y gracias a nuevas tecnologías que permiten delimitar el área de tejido a extirpar, este tratamiento ha mejorado notablemente su tasa de supervivencia [34]. Sin embargo, no todos los pacientes son candidatos a una cirugía, ya que la evaluación considera diversos factores como; la edad, la presencia de

enfermedades crónicas o diferentes condiciones clínicas que pueden comprometer la probabilidad de supervivencia del paciente [35].

Por otro lado, la radioterapia es un tratamiento basado en la radiación ionizante, la cual es capaz de producir daños en la doble cadena del ADN provocando la muerte del tejido tumoral [36]. Además, se recomienda su uso como un tratamiento alternativo para aquellos pacientes que no son candidatos a una cirugía [37]. A pesar de que existe un gran número de investigaciones alrededor de este tratamiento, enfocadas en el estudio de condiciones como: dosimetría, seguridad, manejo de efectos secundarios y potencial teragnóstico [38]; su principal limitante radica en el potencial destructivo y mutágeno en tejidos subyacentes al tumor y la incapacidad de utilizarlo en órganos localizados lejos de la superficie.

1.2.2 La quimioterapia

La quimioterapia es un pilar fundamental en el tratamiento contra el cáncer, su fundamento se centra en emplear agentes citotóxicos capaces de inhibir la metástasis de las células cancerígenas [39]. Los agentes quimioterapéuticos tradicionales afectan principalmente la función de las células neoplásicas, ya que interfieren con la síntesis y función del ADN, ARN y proteínas, lo que conduce a inhibición de la proliferación celular y en última instancia a la muerte celular [40]. Hoy en día la quimioterapia comprende un amplio rango de fármacos incluyendo: agentes alquilantes, antibióticos antitumorales, fármacos antimitóticos, inhibidores de topoisomerasas y antibióticos antraciclínicos [41]. Dentro de la última categoría se encuentra la doxorubicina (DOX) (Figura 1), su estructura está constituida por dos partes: la aglicona, formada por anillos tetracíclicos de antraquinona y una cadena corta de grupos metoxi; por otro lado, la segunda parte está constituida por la daunosamina, un aminoazúcar que se une a la aglicona mediante un enlace

glucosídico. Además, su estructura contiene tres grupos funcionales clave: cetona, amina e hidroxilo [42].

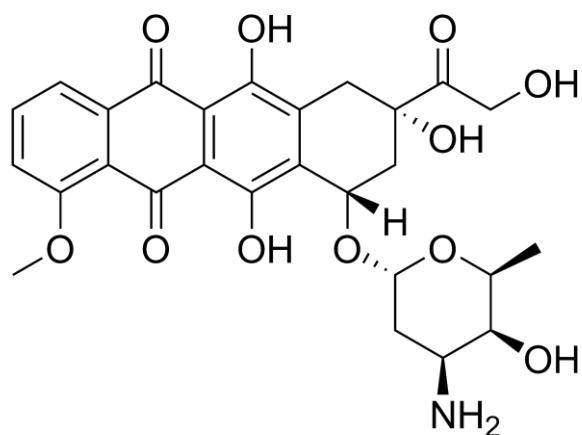


Figura 1. Estructura molecular de la Doxorubicina (DOX).

Este fármaco ha sido utilizado para el tratamiento de distintos tipos de cáncer [42]. De acuerdo con el Instituto Nacional de Cáncer (NCI) la DOX ha sido aprobada para su uso en el tratamiento de: leucemia linfoblástica aguda (LLA), leucemia mieloide aguda (LMA), cáncer de mama, cáncer gástrico, linfoma de Hodgkin y no Hodgkin, neuroblastoma, cáncer de pulmón, cáncer de ovario, cáncer de tiroides, sarcoma en tejido blando y óseo, carcinoma de células transicionales de vejiga y tumor de Wilms [43].

La DOX actúa contra las células malignas inhibiendo la actividad de la topoisomerasa tipo II, esto detiene por completo los procesos de replicación y transcripción del ADN y ARN [44]. Además, se ha comprobado que la DOX promueve el envejecimiento celular, lo que impide que las células cancerígenas sigan dividiéndose [3]. Sin embargo, los efectos adversos a corto y largo plazo causados por este fármaco ponen en riesgo la calidad de vida de los pacientes. Entre los efectos secundarios de la DOX encontramos: cardiomiopatía, neurotoxicidad, hepatotoxicidad y nefropatía [45].

1.3 Tratamientos dirigidos contra el cáncer

En la actualidad, las terapias dirigidas representan un nuevo paradigma en el tratamiento contra el cáncer. Esta estrategia se basa en desarrollar agentes capaces de dirigirse eficazmente a las células cancerígenas, con el objetivo de reducir la

toxicidad hacia tejido sano adyacente. La innovación en el diseño de nanopartículas poliméricas, liposomas, nanopartículas metálicas y nano-micelas destaca las propiedades únicas de estos sistemas volviéndolos aptos para el desarrollo de tratamientos más eficaces y seguros [46], [47]. En general, los índices terapéuticos de muchos de los sistemas de liberación dirigida desarrollados y aprobados para la terapia contra el cáncer parecen ser mejores que los de tratamientos convencionales [48]. Por ejemplo, Chang *et al.* probaron sistemas a basados en liposomas con péptidos dirigidos y cargados con DOX en modelos animales, encontrando una mayor tasa de supervivencia debido al incremento en eficacia y seguridad [49].

1.3.1 Microambiente tumoral.

El microambiente tumoral se refiere al entorno celular en el que existen los tumores o las células cancerígenas. Estas células interactúan entre sí, influenciando el desarrollo y progresión de los tumores. Este microambiente se forma cuando las células tumorales colonizan el tejido sano, reprogramando células, secretando factores de señalización y promoviendo la formación de nuevos vasos sanguíneos [50], [51], transformando el entorno para favorecer el crecimiento del tumor y la metástasis. Por lo que es considerado como un elemento esencial en la batalla entre el sistema inmunológico y el tumor [52]. Además, este microambiente presenta numerosas barreras físicas que dificultan el efecto de los fármacos en las células cancerígenas. Estas barreras incluyen; estructura anormal de los vasos sanguíneos, presión elevada del fluido intersticial y componentes densos en la matriz extracelular; lo cual causa limitaciones en la penetración y distribución de los fármacos dentro de los tumores [53].

En consecuencia, el desarrollo de terapias dirigidas basadas en las características del microambiente tumoral y en la respuesta a diversos estímulos como: la temperatura, el pH, la luz o los campos magnéticos; se ha posicionado como una alternativa prometedora. Asimismo, como se observa en la Figura 2, la incorporación de fármacos anticancerígenos en estos sistemas, en combinación con lo antes mencionado, permite mejorar su especificidad hacia células malignas, y con esto, aumentar su eficacia [54].

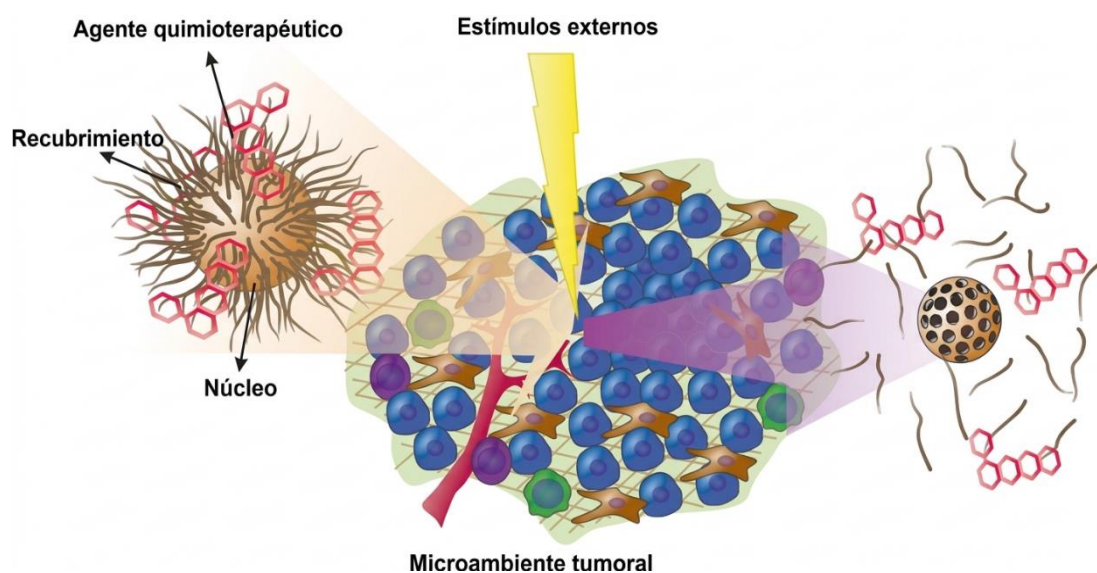


Figura 2. Interacción de nanosistemas con el microambiente tumoral para la liberación controlada de fármacos. Modificado de [54].

1.3.2 Nanosistemas para liberación dirigida.

Los nanosistemas pertenecen a una clase de materiales, caracterizados por su tamaño dentro de la escala nanométrica, llamados nanomateriales. Estos nanosistemas pueden ser utilizados en diversas aplicaciones, como: imagenología, bioingeniería, desarrollo de dispositivos médicos, diagnóstico clínico, administración de fármacos, entre otras [55]. La naturaleza e identidad de los materiales que los componen pueden otorgarles propiedades como: biocompatibilidad, respuesta a estímulos y funcionalidades terapéuticas, por lo que se han convertido en plataformas ideales para diagnosticar y tratar enfermedades como el cáncer [56].

Existen distintos tipos de nanosistemas utilizados para la terapia dirigida, los cuales pueden ser de naturaleza orgánica, como liposomas y dendrímeros, así como nanosistemas inorgánicos, basados en materiales metálicos o magnéticos [57]. En la Figura 3 se muestran algunas estructuras empleadas en el desarrollo de nanosistemas.

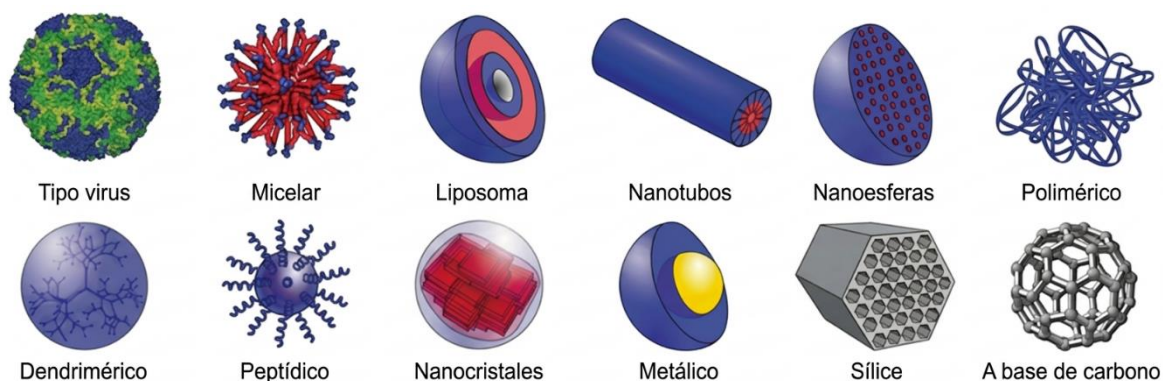


Figura 3. Representación esquemática de los diferentes tipos de nanosistemas. Modificado de [88].

En los últimos años, el desarrollo de estos sistemas ha aumentado significativamente. Recientemente, algunos nanoacarreadores, han logrado avanzar hasta la etapa de evaluación clínica, en distintas fases. Incluso existen nanosistemas de este tipo que ya han sido aprobados (Tabla 1), como el caso de CPX-351/Vyxeos, una formulación liposomal aprobada por la FDA y utilizada para tratar la leucemia mieloide aguda (LMA) [58].

Tabla 1. Nanosistemas en fase clínica o aprobados para tratamiento anticancerígeno [58], [59]

Nombre	Nanosistema	Fármaco	Aplicación	Fase	Año
CRLX301	Nanopartículas	Docetaxel	Tumores sólidos	I/II	2017
	basadas en				
	ciclodextrina.				
NK105	Micelas	Paclitaxel	Cáncer de mama	III	2017
CriPec	Micelas	Docetaxel	Cáncer de ovario	II	2018
BIND-014	Nanopartículas	Docetaxel	Cáncer de próstata,	II	2020
	de PEG-PLGA y Pla-PEG		cáncer cervical y cáncer de pulmón de		

células no pequeñas y cáncer de pulmón con mutación en KRAS.					
OnivydeM M-398 (Merrimak) k)	Nanopartículas lipídicas	Irinotecán	Cáncer de páncreas	Aprobado por FDA	2015
CPX- 351/Vyxeo s	Liposoma	Daunorubicina	Leucemia	Aprobado por FDA Aprobado por EMA	2017 2018
NBTXR3/H ensify	Nanopartículas de óxido de hafnio		Sarcomas de tejidos blandos	Aprobado por CE Mark	2019

1.4 Nanopartículas de óxidos metálicos incorporadas en nanoacarreadores.

Dentro de los componentes que se han incorporado en nanoacarreadores para tratamientos anticancerígenos, se encuentran las nanopartículas a base de óxidos metálicos. Estos materiales presentan propiedades fisicoquímicas con potencial citotóxico para las células cancerígenas, [60]. En función de estas propiedades, algunos óxidos metálicos como óxidos de hierro (Fe_xO_y), óxido de zinc (ZnO) y óxido de cobre (CuO), han sido utilizados para desarrollar nanoacarreadores que permitan la liberación dirigida de fármacos anticancerígenos [61].

Generalmente, al ser internalizadas en las células, los óxidos metálicos, inducen apoptosis, un proceso de muerte celular programada fundamental para mantener el equilibrio entre la muerte y la división celular. La evasión de este mecanismo conduce a la multiplicación descontrolada de las células, favoreciendo el desarrollo de diversas enfermedades, incluido el cáncer [62]. En este contexto, la apoptosis se ha identificado como uno de los principales mecanismos de muerte celular inducido por nanopartículas capaces de generar estrés oxidativo. [63]. Además, diversos estudios han demostrado que nanopartículas de óxidos metálicos, como CuO , incrementan la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), lo que induce apoptosis celular [64]. Por otro lado, las nanopartículas de óxido de zinc (NPs de

ZnO) pueden inducir este mecanismo mediante el aumento en la actividad de las caspasas, las cuales son enzimas clave en este mecanismo [65]. Asimismo, cuando estos sistemas trabajan en conjunto con fármacos anticancerígenos y en presencia de iones metálicos generan altos niveles de toxicidad en las células cancerígenas, induciendo su muerte [66].

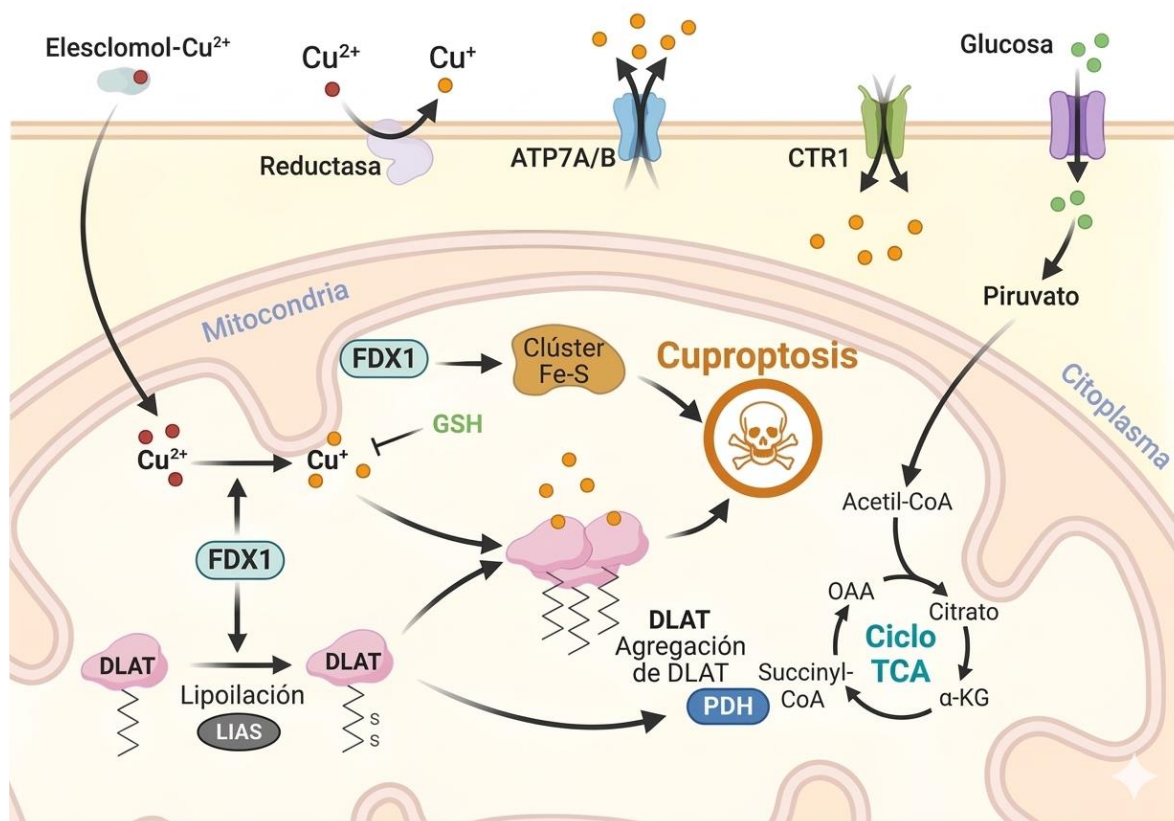


Figura 4. Representación esquemática del mecanismo de cuproptosis a nivel mitocondrial. Modificado de [67].

Por otro lado, en el caso de nanopartículas a base CuO y Cu^{2+} , recientemente se ha descrito un mecanismo de muerte celular denominado *cuproptosis*. Como se muestra en la Figura 4, la cuproptosis es una forma de muerte celular desencadenada por la acumulación continua de Cu^{2+} en las mitocondrias [68], el cual se une directamente a proteínas lipoiladas como la S-acetiltransferasa lipoilada (DLAT), (enzima asociada al ciclo del ácido tricarboxílico (TCA)). Asimismo, este proceso es mediado por la proteína FDX1 , la cual participa en la reducción de Cu^{2+} a Cu , favoreciendo la interacción del cobre con la agregación de proteínas lipoiladas y la inestabilidad de clústeres de hierro-azufre (Fe-S), estructuras esenciales para la

función de diversas enzimas mitocondriales [67], [69]. Estos eventos promueven el estrés proteotóxico, lo que finalmente conduce a la muerte celular [70].

Estudios recientes han demostrado que la administración de elesclomol (receptor celular), en células cancerígenas incrementa los niveles intracelulares de Cu^{2+} , lo que conduce a una regulación negativa del transportador ATP7A y favorece la acumulación de ROS [71]. El descubrimiento de la cuproptosis abre nuevas perspectivas para la investigación de tratamientos anticancerígenos. En este sentido, los ionóforos de cobre y los fármacos relacionados con este mecanismo presentan un gran potencial para su aplicación en el tratamiento del cáncer [68].

1.5 Polímeros sensibles a estímulos usados en nanoacarreadores.

Frecuentemente, se incorporan materiales de naturaleza orgánica en nanosistemas de liberación. Estos, dependiendo de su composición, pueden otorgar ciertas ventajas como: biocompatibilidad, protección del fármaco y control en la liberación. Dentro de estos, se encuentran los polímeros. Los cuales se definen como macromoléculas formadas por cadenas de unidades repetitivas, llamadas monómeros, unidas mediante enlaces covalentes [72]. Nanopartículas poliméricas han sido ampliamente utilizadas como nanoacarreadores de fármacos debido a su excelente biocompatibilidad, biodegradabilidad y la posibilidad de diseño de estructuras versátiles [73]. Además, existen polímeros con la capacidad de presentar cambios conformacionales abruptos, en respuesta distintos estímulos como: temperatura, pH, enzimas, luz, campo magnético o ultrasonidos [74], que resultan ideales como componentes de sistemas dirigidos

Dentro de este grupo de polímeros *estímulo-responsivos* se encuentran los sensibles a los cambios de pH. Este factor se ha convertido en uno de los más utilizados debido a que el microambiente tumoral presenta una mayor acidez con valores entre 6.4 y 5.6 [75], en comparación con el del tejido sano, que mantiene un pH cercano a 7.4 [76]. En un concepto general, la respuesta al pH busca realizar la liberación del fármaco en el pH ácido de los tumores [77], como se ilustra en la Figura 5, donde los nanoacarreadores permanecen estables en condiciones fisiológicas y liberan su cargo en el microambiente tumoral.

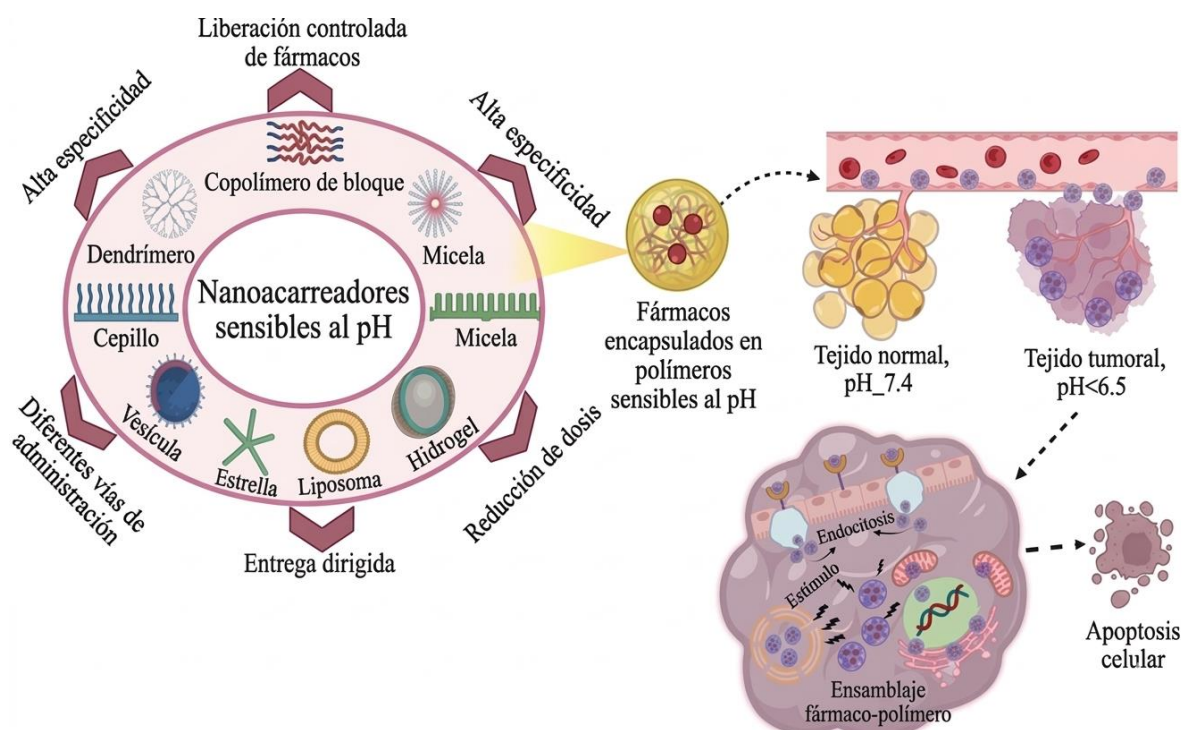


Figura 5. Esquema del mecanismo de liberación dirigida de fármacos mediante nanoacarreadores sensibles al pH en el microambiente tumoral. Modificado de [84].

Existen diversos polímeros sensibles al pH clasificados principalmente como poliácidos y polibases. Los poliácidos son polímeros que contienen grupos funcionales ácidos; en condiciones de pH bajo, estos grupos tienden a protonarse, mientras que a pH neutro o alcalino se desprotonan. Ejemplo de este tipo de polímeros incluyen el poli(ácido-L-aspartico) [78] o el poli(ácido-L-glutámico) [79], los cuales han sido utilizados para desarrollar nanoacarreadores de fármacos. Por otra parte, las polibases son polímeros que contienen grupos básicos capaces de protonarse en medios ácidos, adquiriendo cargas positivas en sus cadenas [80]. Se han utilizados polibases como la polietilenima (PEI)[81] y el quitosano[82] para el desarrollo de terapias dirigidas para el cáncer. En general, la respuesta al pH se asocia principalmente con la protonación de los grupos ionizables o enlaces químicos presentes en los materiales poliméricos. Estos cambios, inducidos por estímulos externos, confieren alta sensibilidad a variaciones del pH [83].

Dentro de las polibases encontramos la poli(4-vinil-piridina) (P4VP), la cual presenta un comportamiento dependiente del pH. En medios ácidos, este polímero se

protona, lo que provoca la expansión de sus cadenas y un aumento en su diámetro. Mientras que a pH básico se mantiene en un estado neutro [84]. Además, cuando el pH es superior al valor de pKa, las cadenas poliméricas tienden a contraerse, mientras que a pH inferiores al pKa se expanden [84]. El valor de pKa varía según el polímero utilizado, en el caso de la P4VP se ha reportado un pKa de aproximadamente 5.6.

1.6 Nanoacarreadores híbridos

Los nanoacarreadores híbridos son sistemas emergentes formados por una combinación de plataformas de administración de fármacos ya establecidas [85]. Estos sistemas combinan materiales de distinta naturaleza. A partir de esto se pueden combinar componentes orgánicos, inorgánicos e incluso bioactivos a escala nanométrica en un solo material, lo que ha dado lugar a composiciones nuevas para la administración de fármacos [86]. La Figura 6 muestra nanoestructuras como micelas, liposomas o nanopartículas que pueden emplearse como plataformas base para el desarrollo de nanoacarreadores híbridos. En estos sistemas, dichas estructuras se combinan con otros componentes como polímeros o moléculas funcionales [87], con el objetivo de mejorar propiedades clave como la biodistribución, la estabilidad y la solubilidad. Además de reducir su toxicidad y favorecer liberación dirigida del fármaco [88].

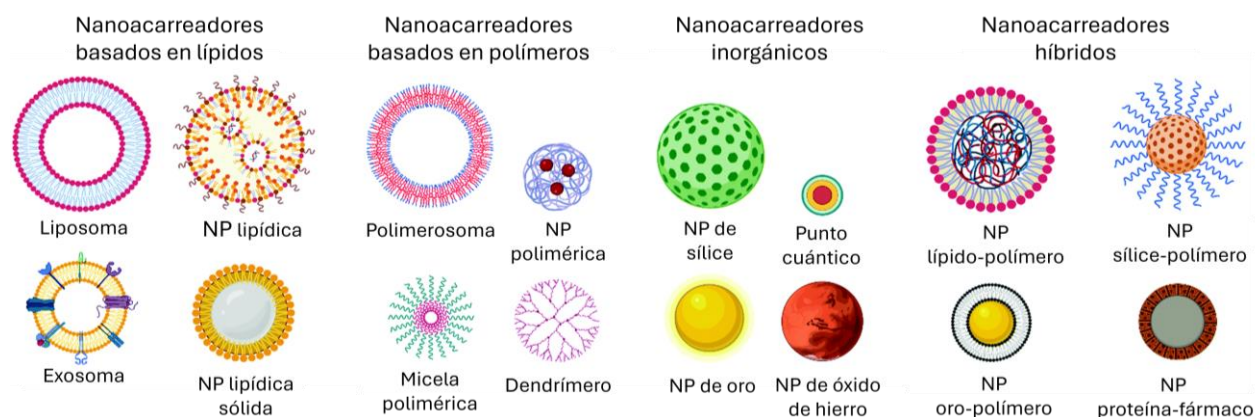


Figura 6. Representación esquemática de los tipos de nanoacarreadores según su composición. Modificado de [127].

Dentro de los nanoacarreadores se encuentran los nanocompuestos a base de nanopartículas metálicas recubiertas con polímero. Las cuales permiten encapsular activos terapéuticos de bajo peso molecular. Su tamaño puede variar en un rango de 10 a 100 nm [89] de diámetro. Este tipo de nanocompuestos presentan diversas ventajas entre ellas: la posibilidad de sintetizarlas a partir de diferentes métodos, alta estabilidad coloidal y una elevada eficiencia de liberación de fármacos en una zona específica [57].

El tamaño de las nanopartículas en comparación con el del fármaco libre reduce la difusión y la extravasación a través de la vasculatura del tejido sano, disminuyendo la exposición sistémica general y la toxicidad [89]. En contraste, los tumores sólidos presentan una vasculatura anormal y altamente permeable, lo que permite la acumulación de estos sistemas en el tejido tumoral mediante el efecto de permeabilidad y retención mejorada (EPR) [90]. De esta manera, los nanoacarreadores híbridos, combinan el mecanismo de dirección pasiva, basado en el efecto EPR con la liberación dirigida y las características específicas del microambiente tumoral [91].

Capítulo II- Antecedentes

2. 1 Nanocompuestos para la liberación de fármacos a base de NPs metálicas y polímeros pH-sensibles.

La terapia dirigida mediante nanotecnología presenta un desafío significativo a nivel mundial. Dentro de estos sistemas, las nanopartículas de óxidos metálicos destacan por sus propiedades fisicoquímicas que pueden llegar a ser letales para las células cancerígenas. Asimismo, la funcionalización superficial con polímeros potencia su precisión y selectividad, permitiendo una liberación controlada de agentes terapéuticos [61].

En este contexto, existen investigaciones que desarrollan nanoacarreadores híbridos prometedores. Khodashenas et al., (2021) sintetizaron nanopartículas de Au obtenidas por medio de reducción química y recubiertas con gelatina como biopolímero, con el objetivo de desarrollar un nanoacarreador capaz de ser utilizado en el tratamiento del cáncer de mama. Los resultados mostraron que al recubrir las nanopartículas con el biopolímero la citotoxicidad disminuyó notablemente y la mayor capacidad de liberación ocurrió a pH 5.4 y 40 °C.

En la misma línea, Li et al., (2021) diseñó un nanocompuesto basado en nanopartículas de Au sintetizadas por medio del método de citrato reducción, Posteriormente estas nanopartículas fueron modificadas con polidopamina (PDA) y polietilenglicol (PEG) con el objetivo de utilizarlas para la liberación controlada de Metotrexano (MTX). Los resultados mostraron una capacidad de liberación más rápida en pH 5, obteniendo el 64.83% en 48 h. Mientras que en pH 7.4 solo se obtuvo un 28.97% de liberación. Asimismo, las pruebas *in vivo* mostraron una disminución significativa en el tamaño de los tumores tratados con Au@PDA-PEG-MTX NPs.

Por otro lado, Chen et al., (2023) desarrollaron un sistema de liberación controlada con alta capacidad de carga, baja toxicidad y adecuada biocompatibilidad, basado en nanopartículas metálicas de CuFe (cobre-hierro) y CoFe (cobalto-hierro). Las nanopartículas fueron sintetizadas mediante coprecipitación y posteriormente modificadas con polietilenglicol metacrilato (PEGMA) a través de una polimerización

radical por transferencia de átomos (ATRP). Los resultados mostraron una gran capacidad de carga de DOX obteniendo 80% y 84% respectivamente y liberando el 56% y 75.9% a pH 5. Por otro lado, las pruebas *in vivo* mostraron tamaños tumorales más bajos en aquellos que fueron tratados con CuFePBA@PEGMA@AS1411/DOX en comparación con DOX libre, lo que demuestra una buena biocompatibilidad y un buen tumor targeting contribuyendo a la reducción de efectos secundarios.

Recientemente, Chen et al., (2024) prepararon nanorods de Au modificados con polidopamina y cargados con doxorubicina (DOX), con el fin de desarrollar un sistema de liberación dirigida. Los resultados de las pruebas de liberación se llevaron a cabo en diferentes pH. En pH 5 liberó 4.13 µg de DOX mientras que en pH 7.4 solamente liberó 1.8 µg comprobando la pH responsividad del sistema Au@mPDA@DOX. Además, los estudios *in vivo* demostraron una disminución en el peso de los ratones tratados con este sistema, sin observarse daño en ningún órgano.

2.2 Nanocompuestos para la liberación de fármacos a base de NPs de CuO y polímeros pH sensibles.

El uso de nanoplataformas basadas en óxido de cobre representan una estrategia útil para inducir una sinergia con fármacos anticancerígenos, potenciando su efecto. Estos nanocompuestos han sido diseñados para maximizar la acumulación de este metal en los tumores. Con el fin de mejorar su especificidad y focalización tumoral, dichos sistemas han sido funcionalizados mediante la incorporación de anticuerpos, péptidos cortos, biomoléculas o polímeros [92].

Se han desarrollado diversos sistemas basados en nanopartículas de óxido de cobre como el caso de Sriram et al., (2017), quienes realizaron una modificación hidrofóbica del quitosano mediante la funcionalización de los grupos amino, con el objetivo de mejorar la encapsulación del fármaco y su actividad anticancerígena. Además, el quitosano modificado se utilizó como recubrimiento de NPs de CuO obteniendo un material híbrido para la administración de curcumina. Los resultados mostraron que este sistema liberó el 72.1% del fármaco a pH 1.2, mientras que a

pH 7.4 la liberación fue de 66.5%. Por otro lado, el valor de IC₅₀ del sistema se situó entre 12 y 19 µg/ml mostrando una disminución significativa en comparación con el quitosano sin modificar.

Por otro lado, Varukattu et al., (2018) sintetizaron NPs de CuO recubiertas con quitosano utilizando el método de reducción en un solo paso y empleando distintas concentraciones de polímero (0.5%, 1% y 2%), con el objetivo de desarrollar un nanocompósito capaz de cargar y liberar DOX en células de cáncer de mama. Los resultados mostraron que una mayor concentración de quitosano favorece la capacidad de carga del fármaco. Sin embargo, los nanocompósitos con una mayor cantidad de polímero mostraron una menor eficiencia en la liberación. El sistema con 1% de quitosano se identificó como el mejor, mostrando 35% de liberación a pH 7 y 90% a pH 5, lo que confirma la pH-dependencia del sistema y mejorando la actividad terapéutica de la DOX.

Asimismo, Guo et al., (2020) desarrollaron un sistema en dos pasos de síntesis y recubrimiento de NPs de CuO utilizando diferentes concentraciones de PLGA (polilactida-co-glicólido), con el objetivo de reducir la citotoxicidad del CuO y mejorar la liberación controlada de DOX y docetaxel. Los resultados mostraron una viabilidad celular del 83%, mientras que la DOX y el docetaxel libres presentaron un 53% y 60% respectivamente. Esto indica la disminución de la citotoxicidad asociada a las NPs de CuO y abriendo la posibilidad a utilizarlo para aplicaciones futuras.

Wu et al., (2020) prepararon un nanocatalizador biocompatible basado en un núcleo central de nanocristales de CuO (Cu₂O-PEG (polietilenglicol) NC), con el fin de ser utilizado para la carga y liberación de DOX desarrollando una terapia sinérgica. Los resultados mostraron que la DOX ocasiona una leve supresión del crecimiento tumoral en los ratones. Sin embargo, al tratarlos con DOX@Cu₂O-PEG se observó una supresión del crecimiento tumoral más adecuada. Además, DOX@Cu₂O-PEG causó un mayor nivel de apoptosis celular comparado con otros tratamientos utilizados.

Del mismo modo, Elsayed et al., (2021) prepararon NPs de CuO funcionalizadas con quitosano y encapsuladas en quercetina (CuO-ChNPs-Q), con el fin de evaluar

su actividad anticancerígena *in vivo* e *in vitro*. Los resultados mostraron que las CuO-ChNPs-Q pueden ser un agente terapéutico prometedor para tratar el cáncer de mama debido a su baja toxicidad en los órganos vitales comparado con las CuONPs. También demostraron la capacidad de inhibir el crecimiento tumoral y la capacidad de inducir la apoptosis mediante la regulación de la división celular.

Recientemente, Galindo et al., (2025) desarrollaron un material híbrido pH responsivo compuesto por nanopartículas de CuO sintetizadas mediante hidrólisis oxidativa y modificadas con quitosano con el objetivo de ser utilizada como una plataforma para la liberación controlada de doxorrubicina (DOX). Los resultados mostraron una mejora en la capacidad de carga del fármaco. Además, los ensayos de liberación *in vitro* demostraron un perfil de liberación pH-dependiente. Finalmente, los estudios de citotoxicidad mostraron la reducción de toxicidad en fibroblastos con un porcentaje de viabilidad celular del 70%.

2.3 Nanocompósitos para la liberación de fármacos anticancerígenos a base de P4VP y NPs inorgánicas.

Entre los polímeros pH sensibles empleados en sistemas de liberación controlada de fármacos, la P4VP destaca por su alta reactividad y abrupta respuesta a los cambios de pH. No obstante, los estudios que integran P4VP con nanopartículas para el desarrollo de nanoacarreadores de fármacos anticancerígenos son considerablemente escasos en comparación con otros polímeros pH sensibles ampliamente reportados [93].

Dentro de las investigaciones que se han llevado a cabo se encuentra la de Arizaga et al., (2014) quienes desarrollaron un sistema multirresponsivo compuesto por nanopartículas de Fe_2O_3 sintetizadas mediante el método de Hyeon. Posteriormente, estas nanopartículas fueron encapsuladas en esferas de P4VP obtenidas por nanoprecipitación. Los resultados mostraron un cambio significativo en el diámetro hidrodinámico del sistema a pH 6.8 el diámetro aproximado era de 230 nm, mientras que a pH 4.1 el diámetro aumentó a 660 nm. Este resultado representa un incremento de aproximadamente tres veces el tamaño inicial del sistema, lo cual comprueba la pH-sensibilidad del sistema.

Por su parte, Kavitha et al., (2015) prepararon óxido de grafeno (GO) utilizando el método de Hummers. Posteriormente, las láminas de GO fueron funcionalizadas con grupos amina utilizando NHS como iniciador. Finalmente, se llevó a cabo una polimerización radical por transferencia de átomos (ATRP). Con el objetivo de obtener un sistema útil para la liberación de fármacos y aplicaciones antimicrobianas. Los resultados mostraron que la P4VP es la responsable de impartir pH sensibilidad dentro del sistema. Además, el nanocompuesto GO-P4VP-CPT presentó una viabilidad celular del 76% después de 5 días en células sanas. Por otro lado, en células cancerígenas se obtuvo una viabilidad celular del 52% lo que indica una mejora en la eficiencia terapéutica en comparación con la campotecina (CPT).

Del mismo modo, Contreras-Cáceres et al., (2017) sintetizaron nanopartículas de Au utilizando un método de crecimiento por semillas modificado y añadiendo un recubrimiento polimérico de P4VP. Posterior a ello, se llevó a cabo la oxidación de las nanopartículas de Au obteniendo esferas huecas de P4VP, con el fin de desarrollar un sistema que pueda ser utilizado como una plataforma que ayude a mitigar las limitaciones de los tratamientos actuales del cáncer de pulmón y mama. Los resultados mostraron que el sistema PTX@p4VP-NPs presenta un comportamiento dependiente del pH. Además, los estudios de citotoxicidad muestran una disminución significativa en el IC₅₀ de las células cancerígenas de ambos tipos de cáncer, por lo que el sistema es un buen candidato para mejorar la eficiencia *in vivo* del paclitaxel (PTX).

Rahola et al., (2018) prepararon un sistema híbrido pH-sensible utilizando 4VP como monómero y N, N'-metilenbisacrilamida como agente entrecruzante, mediante una polimerización por radicales libres en presencia de nanopartículas de Au. Con el fin de obtener un nanocompósito pH-responsivo capaz de cargar doxorubicina (DOX) en la red polimérica y ser utilizado como un sistema de liberación de fármacos en los tratamientos anticancerígenos. Los resultados mostraron que la cantidad de entrecruzante juega un papel importante en la capacidad de hinchamiento del sistema y en la respuesta al pH que presentan. Los nanocompósitos con una mayor

cantidad de entrecruzante disminuyen su capacidad de hinchamiento en cambio aquellos con menor cantidad presenta una mayor protonación de los grupos piridina. Por otra parte, la carga de DOX obtenida en los nanocompuestos tuvo un valor de 14.7%, lo cual es un resultado significativo si se considera que las técnicas de fabricación de nanopartículas presentan cargas de fármacos limitadas al 20%.

De manera similar, Espinola Portilla et al., (2021) desarrollaron un nanoacarreador de fármacos mediante la funcionalización covalente de nanopartículas de óxido de hierro con un copolímero tribloque que incluye (3-aminopropil) trietoxisilano, (trimetoxisilil)propil metacrilato), y poli(4-vinilpiridina). Con el objetivo de desarrollar una estrategia más efectiva para la administración de medicamentos quimioterapéuticos. Los resultados mostraron una capacidad de carga de 61.9 mg de DOX y una liberación de 57.9 mg durante las primeras 4 h a pH 4.0, mientras que a pH 6.0 y 7.4 la liberación estaba totalmente bloqueada. Demostrando una eficiencia de liberación del 93.5%.

Los resultados de los trabajos descritos en esta sección constituyen un importante precedente para la presente investigación en la que se pretende modificar NPs de CuO, a través de un injerto de P4VP y finalmente probar su potencial como nanoacarreador híbrido de DOX.

Capítulo III- Justificación

En México, el cáncer ocupa los primeros lugares como causa de muerte prematura, los tratamientos convencionales, contemplados dentro del sistema de salud, impactan negativamente en la calidad de vida de los pacientes. La quimioterapia sigue siendo el pilar terapéutico, dentro de la infraestructura hospitalaria de países en desarrollo. Esta realidad justifica ampliamente la búsqueda de acarreadores de fármacos que permitan dirigir y controlar la liberación del fármaco en el sitio tumoral.

La nanotecnología ha abierto una vía prometedora para superar las limitaciones de la quimioterapia convencional mediante el diseño de nanoacarreadores, tomando como base características propias del microambiente tumoral. Entre los estímulos internos más explotados, el pH ocupa un lugar central. La incorporación de materiales, como macromoléculas orgánicas, pH-responsivos en la arquitectura del nanoacarreador permite así diseñar sistemas óptimos.

Dentro de los materiales inorgánicos empleados en nanomedicina, las nanopartículas de óxido de cobre (NPs CuO) han suscitado un interés creciente debido a sus propiedades fisicoquímicas únicas, actividad y citotóxica intrínseca. Esto las posiciona como candidatas para el diseño de nanohíbridos con efecto sinérgico. Asimismo, su superficie química permite diversas estrategias de modificación que posibilitan el injerto de polímeros.

A pesar del creciente interés en los nanoacarreadores pH-responsivos y en las NPs de CuO como agentes terapéuticos, la literatura reporta escasos estudios que exploren de manera sistemática la síntesis, caracterización y evaluación biológica de nanohíbridos basados en CuO funcionalizados específicamente con P4VP para la carga y liberación controlada de doxorubicina. En este contexto, el presente trabajo propone la síntesis y caracterización de un nanohíbrido NPs CuO/P4VP, la evaluación de su comportamiento pH-responsivo, su capacidad de encapsulación de DOX y la evaluación de su actividad citotóxica *in vitro*, con el propósito de sentar las bases para el desarrollo de un nanoacarreador novedoso con aplicación terapéutica contra el cáncer.

Capítulo IV- Hipótesis

Se espera que la síntesis de NPs CuO funcionalizadas con un agente organosilano y posteriormente modificadas con poli-4-vinilpiridina (P4VP) mediante polimerización por radicales libres, produzca un nanohíbrido con propiedades fisicoquímicas apropiadas para su uso como nanoacarreador. La cantidad de agente entrecruzante incorporada en la alimentación determinará el grado de injerto del polímero, el tamaño hidrodinámico, la estabilidad coloidal y la respuesta al pH. Se podrá incorporar DOX, como fármaco modelo. El perfil de liberación *in vitro* se verá afectado por la pH- responsividad del polímero. Además, la actividad citotóxica es potenciada sobre líneas celulares cancerígenas en comparación con líneas celulares sanas.

Capítulo V- Objetivos

5.1 Objetivo general

Sintetizar y caracterizar un nanocompósito de nanopartículas de CuO injertadas con poli-4-vinilpiridina, y evaluar su capacidad como nanoacarreador de DOX con liberación pH-dependiente y actividad anticancerígena *in vitro*.

5.2 Objetivos específicos

1. Sintetizar nanopartículas de CuO mediante precipitación química y funcionalizarlas con viniltrimetoxisilano como agente de acoplamiento (NPsCuO@VS).
2. Injertar poli-4-vinilpiridina en la superficie de las NPsCuO@VS mediante polimerización por radicales libres y estudiar parámetros que influyen en la cantidad de injerto. Específicamente, la cantidad de agente entrecruzante (NMBA).
3. Caracterizar los nanocompósitos mediante: FTIR, DRX, TGA, DLS y potencial Z para confirmar el injerto del polímero y determinar las propiedades fisicoquímicas del nanocompósito.
4. Evaluar el comportamiento pH-responsivo de los nanocompósitos midiendo los cambios en potencial Z a diferentes valores de pH.
5. Determinar la cantidad máxima de carga con DOX para los nanocompósitos.
6. Evaluar la eficiencia de liberación *in vitro* de DOX a partir del nanohíbrido en condiciones de pH tumoral (5.8 y 6.5) y fisiológico (7.4).
7. Determinar la citotoxicidad de los nanocompósitos, el fármaco libre y los nanocompósitos cargados con DOX, sobre una línea celular cancerígena (MDA-MB-231) y una sana (CCD 1132sK) mediante el ensayo de viabilidad celular (MTT).

Capítulo VI - Metodología

6.1 Reactivos y materiales

Para la síntesis de NPs de CuO se utilizó Cloruro de cobre (CuCl_2 , 99%, Sigma-Aldrich) e Hidróxido de sodio (NaOH , 98%, Sigma-Aldrich). Por otro lado, para la funcionalización se utilizó viniltrimetoxisilano (VTMS, 98%, Sigma-Aldrich) y tolueno anhidro (99%, Sigma-Aldrich). Mientras que en la síntesis de los nanocompuestos se utilizó 4-vinilpiridina (4VP, 95%, Sigma-Aldrich), N, N'-metilenbisacrilamida (NMBA, 99%, Sigma-Aldrich) y persulfato de amonio (APS, 98%, Sigma-Aldrich). La determinación de la capacidad de carga se realizó utilizando doxorubicina hidroclicada (DOX, Sigma-Aldrich). Para las pruebas de liberación *in vitro* fue necesaria la preparación de buffers a partir de: ácido cítrico ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$, 99.5%, Sigma-Aldrich), fosfato de sodio dibásico (Na_2HPO_4 , 98%, Sigma-Aldrich) y disolución salina tamponada con fosfato en pastilla (PBS, Sigma-Aldrich). Finalmente, para las pruebas de citotoxicidad se utilizó medio de cultivo Eagle modificado de Dulbecco-F12 (DMEM, Corning Manassas, VA, USA), Suero fetal bovino (SFB 10%, Sigma-Aldrich), Tripsina/EDTA 1X (Sigma-Aldrich), Bromuro de 3-(4,5 dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT, 97%, Sigma-Aldrich), Isopropanol (Sigma-Aldrich). Los solventes utilizados fueron: Agua destilada, Agua Milli Q y Etanol (99%, JT Baker).

6.2 Síntesis de NPs de CuO

Las nanopartículas de CuO fueron sintetizadas mediante una reacción de precipitación química. Se utilizó como precursor una solución de CuCl_2 (0.1 M), a la cual se le adicionó gota a gota una solución de NaOH (1M). La solución se mantuvo en agitación constante hasta alcanzar un pH de 14. Posteriormente, se llevó a un baño de recirculación por 2 h 60 °C. Una vez finalizado el tiempo de reacción las nanopartículas fueron lavadas con agua hasta obtener un pH de 7. Finalmente, se colocaron en la estufa a 80 °C por 24 h para llevar a cabo el proceso de secado.

Una vez obtenidas las nanopartículas, éstas fueron caracterizadas por diversas técnicas como: Espectroscopía de Infrarrojo (FT-IR), Difracción de Rayos X (DRX), Análisis Termogravimétrico (TGA) y Microscopia Electrónica de Transmisión (TEM).

6.3 Funcionalización de NPs mediante agente organosilano (VTMS)

Las NPs_{CuO} obtenidas fueron funcionalizadas utilizando VTMS como agente organosilano para proveer a la superficie de la nanopartícula de grupos vinilos.

Para llevar a cabo la reacción se disolvieron 723 μ L de VTMS en 61.1 mL de tolueno anhidro bajo agitación magnética. Posteriormente, se añadieron 700 mg de NPs de CuO y una vez dispersas se colocaron en un sistema de agitación magnética con reflujo por 48 h. Transcurrido este tiempo las NPs_{CuO}@VS fueron lavadas en ciclos alternados de agitación magnética y ultrasonido, dos veces con tolueno (120 mL) y dos veces con etanol (120 mL) para eliminar el VTMS que no reaccionó y silanoides libres.

6.4 Síntesis de nanocompuestos NPs_{CuO}@VS-g-P4VP

Las NPs_{CuO}@VS fueron modificadas mediante una polimerización por radicales libres. En un matraz bola se agregaron 75 mM de 4VP y 15 mL de agua destilada. Posteriormente, se incorporaron 150 mg de NPs@VS, manteniendo la solución bajo agitación magnética constante. Una vez que las nanopartículas se dispersaron, se añadió NMBA como agente entrecruzante y APS como iniciador. La solución se desgasificó con N₂ durante 20 min y se colocó en un baño a 60 °C durante 24 h. Concluido el tiempo de reacción, las NPs@VS-g-P4VP se lavaron con agua y etanol bajo agitación magnética.

Durante esta etapa, se evaluaron distintos parámetros con el fin de conocer las mejores condiciones para la reacción. Se varió la concentración de monómero (75 mM, 100 mM y 150 mM), la concentración de entrecruzante (0%, 5% y 10%, respecto a 4vp) y el tiempo de reacción (4, 8, 16 y 24 h).

6.5 Caracterización de nanocompuestos

6.5.1 Difracción de Rayos X (DRX)

Esta técnica proporciona información sobre la estructura cristalina de las NPs de CuO, confirmando la formación del compuesto correspondiente, así como su pureza.

6.5.2 Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR)

La espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR) es una técnica que se basa en la interacción de la radiación infrarroja y la muestra siendo capaz de proporcionar información sobre la composición y estructura de ésta. Por medio de esta técnica se comprobaron las modificaciones realizadas en la superficie de las NPs de CuO y el injerto polimérico.

6.5.3 Análisis Termogravimétrico (TGA)

El análisis termogravimétrico (TGA) estudia la estabilidad térmica y la composición de los materiales, por lo que permite conocer pérdidas de masa por descomposición o volatilización. A través de la pérdida de peso obtenida se determinó el porcentaje de polímero que contenían los nanocompuestos.

6.5.4 Esparcimiento Dinámico de Luz (DLS) y Potencial Zeta (ζ)

Esta técnica permite medir el tamaño de partícula, por medio de un láser dirigido hacia la muestra que detecta la dirección en la que se esparce la luz. A partir de esta técnica se determinó el tamaño hidrodinámico de los nanocompuestos obtenidos en cada una de las etapas, así como los cambios de carga superficial generados en diferentes pH.

6.5.5 Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM)

Mediante esta técnica se obtuvieron resultados más precisos del tamaño y la morfología de las NPs de CuO y de los nanocompuestos distintos nanocompuestos realizados.

6.6 Determinación de la capacidad de carga de DOX

Para determinar la capacidad de carga de DOX se tomaron 25 mg de NPs@VS-g-P4VP, las cuales fueron depositadas en una solución de DOX (0.1 mg/mL). Se tomaron alícuotas a diferentes intervalos para medir su absorbancia mediante UV-Vis a una longitud de onda de 480 nm. Una vez alcanzada la estabilidad en la absorbancia, se dio por concluido el proceso de carga. La cantidad de DOX cargada fue determinada mediante una curva de calibración previamente construida (Figura 7).

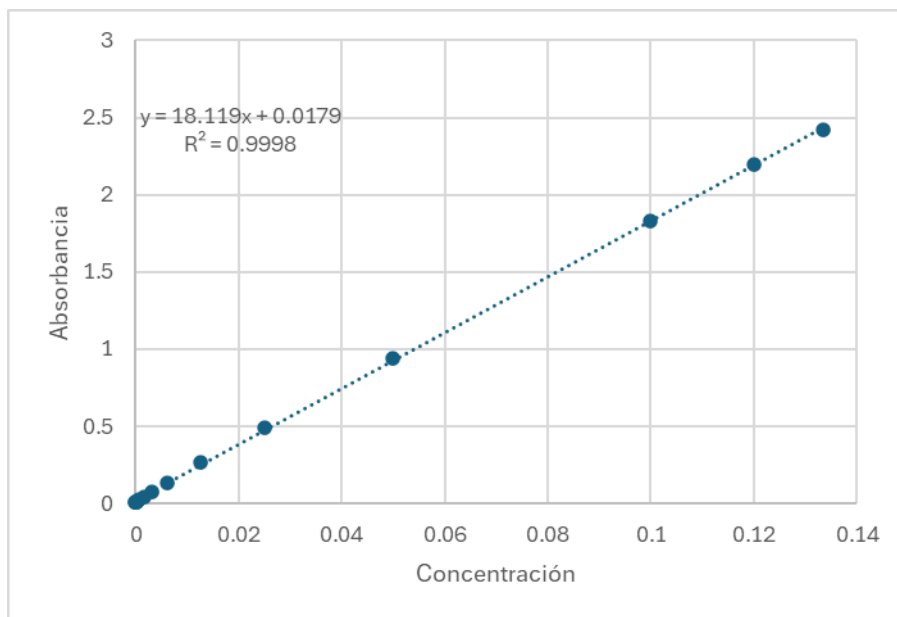


Figura 7. Curva de calibración de doxorubicina empleada para el cálculo de la capacidad de carga del nanocompósito

La cantidad de carga se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$DOX \left(\frac{mg}{mg \text{ nanocompósitos}} \right) = \frac{V(C_0 - C_f)}{m} \quad (1)$$

Donde C_0 se refiere a la concentración inicial de DOX, C_f la concentración de DOX que queda en el sobrenadante. V el volumen de la solución de DOX en mililitros y m la masa de los nanocompósitos. Finalmente, la solución de DOX fue desechada y las NPs@VS-g-P4VP se secaron para su posterior uso en las pruebas de liberación.

6.7 Ensayos de Liberación *in vitro* de DOX

Durante las pruebas de liberación *in vitro*, las muestras previamente cargadas fueron depositadas en una solución buffer fosfato-ácido cítrico a distintos pH (4.6, 5.8 y 7.4) a 37 °C. De la misma manera, a intervalos establecidos se recolectó una alícuota la cual fue analizada mediante UV-vis a una longitud de onda de 480 nm. El porcentaje de liberación fue determinado mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Eficiencia de liberación \%} = \frac{Q_f}{Q_0} \times 100 \quad (2)$$

Donde, Q_f se relaciona con la cantidad final y Q_0 se refiere a la cantidad inicial de DOX.

6.8 Modelado de la cinética de liberación

Después de realizar ensayos de liberación, los perfiles fueron analizados mediante diferentes modelos matemáticos para encontrar el mecanismo físico por el cual se llevó a cabo la liberación del fármaco. Los modelos matemáticos aplicados fueron los siguientes:

- Modelo de Orden Cero: este modelo es utilizado para describir fármacos que se liberan lentamente con una concentración constante. En este modelo la velocidad de liberación no depende de la concentración. Este mecanismo se representa por la siguiente ecuación:

$$Q_t - Q_0 = k_0 t \quad (3)$$

Donde, Q_t es la cantidad de fármaco liberado a un tiempo “t”, Q_0 es la concentración inicial del fármaco a $t=0$ y k_0 es la constante de velocidad para orden cero.

- Modelo de Primer Orden: este modelo cinético se utiliza para describir la absorción de fármacos, su liberación y su eliminación del cuerpo, así como describir fármacos que contienen sustancias hidrosolubles en el material poroso. Este modelo está representado por la siguiente ecuación:

$$\frac{dc}{dt} = -Kc \quad (4)$$

Donde, dc es el diferencial de concentración, dt es el diferencial del tiempo, K es la constante de primer orden y c corresponde a la concentración.

- Modelo de Higuchi: la ecuación de Higuchi se considera como la más usada y conocida para la liberación controlada. Este modelo describe el mecanismo de liberación regido por difusión y disolución. La ecuación de este modelo se describe de la siguiente manera:

$$Q = A\sqrt{D(2C_0 - C_s)C_s t} \quad (5)$$

Donde Q es la cantidad acumulada de fármaco liberado en un tiempo t por unidad de área. C_0 es la concentración inicial del fármaco, C_s la solubilidad de la matriz y D es el coeficiente de difusión de la molécula de fármaco en la matriz.

- Korsmeyer-Peppas: este modelo describe el mecanismo de liberación del fármaco desde un sistema de nanopartículas poliméricas. Para encontrar el exponente de liberación es necesario utilizar solamente los datos que sean menores al 60%. Para valores $n \leq 0.45$ se considera que el mecanismo de liberación es mediante una difusión de Fick, $0.45 < n = 0.89$ es un transporte “no Fickiano”, valores de $n = 0.89$ se considera un caso II de transporte relacionado con una liberación de orden cero, en caso de que n sea mayor a 0.89 se le denomina super caso II. La ecuación que representa este modelo es:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = K t^n \quad (6)$$

Donde $\frac{M_t}{M_\infty}$ es la fracción de fármaco liberado a un tiempo t determinado, k es la constante de velocidad y n es el exponente de liberación. El valor de “ n ” se utiliza para caracterizar los distintos tipos de difusión.

6.9 Pruebas de citotoxicidad *in vitro*

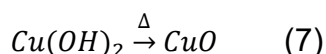
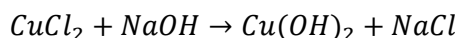
Para evaluar la citotoxicidad de las NPs@VS-g-P4VP se realizó un ensayo MTT, el cual mide la viabilidad celular por medio de su actividad metabólica. Se cultivaron fibroblastos humanos (1132SK) y células de cáncer de mama (MDA-MB-231) en placas de 96 pozos con medio DMEM F-12 por 24 h, a 37 °C y 5% de CO₂. Una vez transcurrido este tiempo, con una confluencia de alrededor del 80%, se aspiró el medio de cultivo de los pozos y se añadieron 100 µL de medio con los diferentes tratamientos (DOX, NPsCuO, NPsCuO@VS-g-P4VP_{5%NMBA}, NPsCuO@VS-g-P4VP_{10%NMBA}, NPsCuO@VS-g-P4VP_{5%NMBA}-DOX y NPsCuO@VS-g-P4VP_{10%NMBA}-DOX) a seis concentraciones diferentes (0, 3.125, 6.25, 12.5, 25, 50 y 100 µg/mL). Posteriormente, las células se dejaron en contacto con los tratamientos por 24 h. Una vez terminado el tiempo de incubación se retiró el medio y se agregaron 50

μL de la sal de tetrazolio (1 mg/mL), que la actividad metabólica de las células viables provoca un cambio de su color amarillo inicial en un compuesto color azul-violeta (cristales de formazán). Las placas se incubaron por 2 h, una vez transcurrido el tiempo la solución de sal de tetrazolio fue descartada y se añadieron 100 μL de isopropanol, el cual disuelve los cristales de formazán. Finalmente, se tomaron lecturas de las placas a 570 nm en un lector UV-Vis, y se calcularon las viabilidades celulares en contraste con pozos control, los cuales no habían sido sometidos a tratamiento alguno.

Capítulo VII- Resultados y Discusión

7.1 Síntesis y funcionalización de NPs de CuO

El soporte inorgánico de los nanocompuestos propuestos en el presente trabajo consta de nanopartículas de óxido de cobre (NPsCuO). Para la síntesis se siguió el método de precipitación química, utilizando como precursor cloruro de cobre (II). El hidróxido de cobre obtenido ($\text{Cu}(\text{OH})_2$) (Ecuación 7) se sometió a calentamiento dando paso a la obtención de un precipitado negro (CuO).



Las NPs CuO se caracterizaron mediante DRX, cuyos resultados se muestran en la Figura 8. En la Figura se puede observar que, en contraste con el estándar JCPDS 48-1548 para el CuO, las señales son consistentes, mostrando intensidad en 35.5° y 38.8° correspondientes con los índices HKL de -111 y 111, respectivamente. Con esto se comprueba la obtención del CuO.

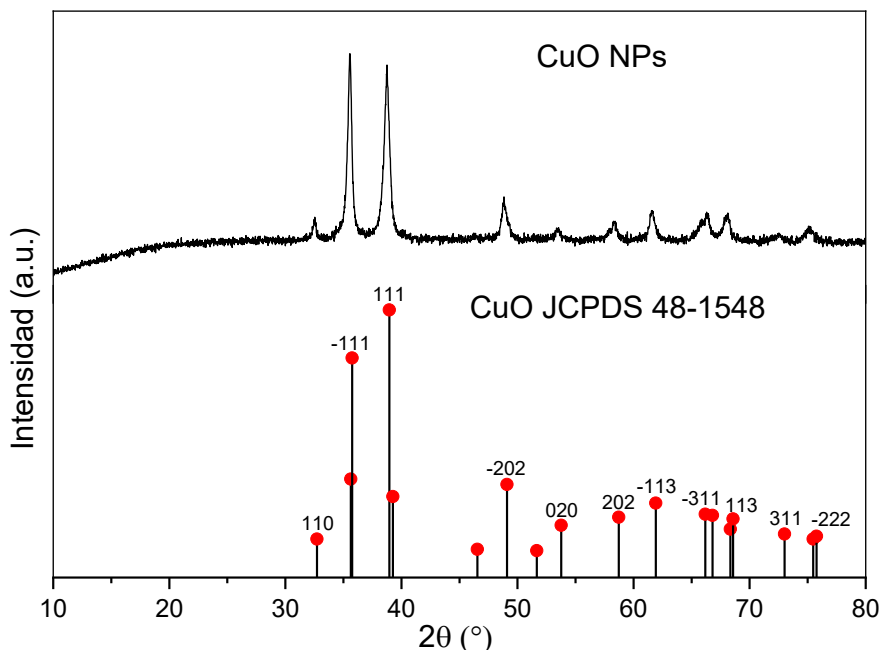


Figura 8. Patrón de difracción de rayos X (DRX) de las NPs CuO.

En la Figura 9a se muestran las imágenes de microscopía electrónica de transmisión (TEM) correspondientes a las NPs de CuO, las nanopartículas

sintetizadas mediante precipitación química a partir de CuCl_2 y NaOH . Las nanopartículas obtenidas exhiben una morfología semiesférica. Sin embargo, se observa una formación de agregados entre partículas, fenómeno comúnmente observado en las NPs de CuO , el cual se atribuye al área superficial y la elevada energía superficial de las nanopartículas [94]. A partir de estas imágenes de TEM se determinó una distribución de tamaños de partícula de 4 a 14 nm (Figura 8b). El diámetro promedio de las NPs de CuO resultó ser 9.43 nm, valor que se encuentra dentro de lo reportado en la literatura para NPs de CuO sintetizadas por métodos de precipitación química similares [95].

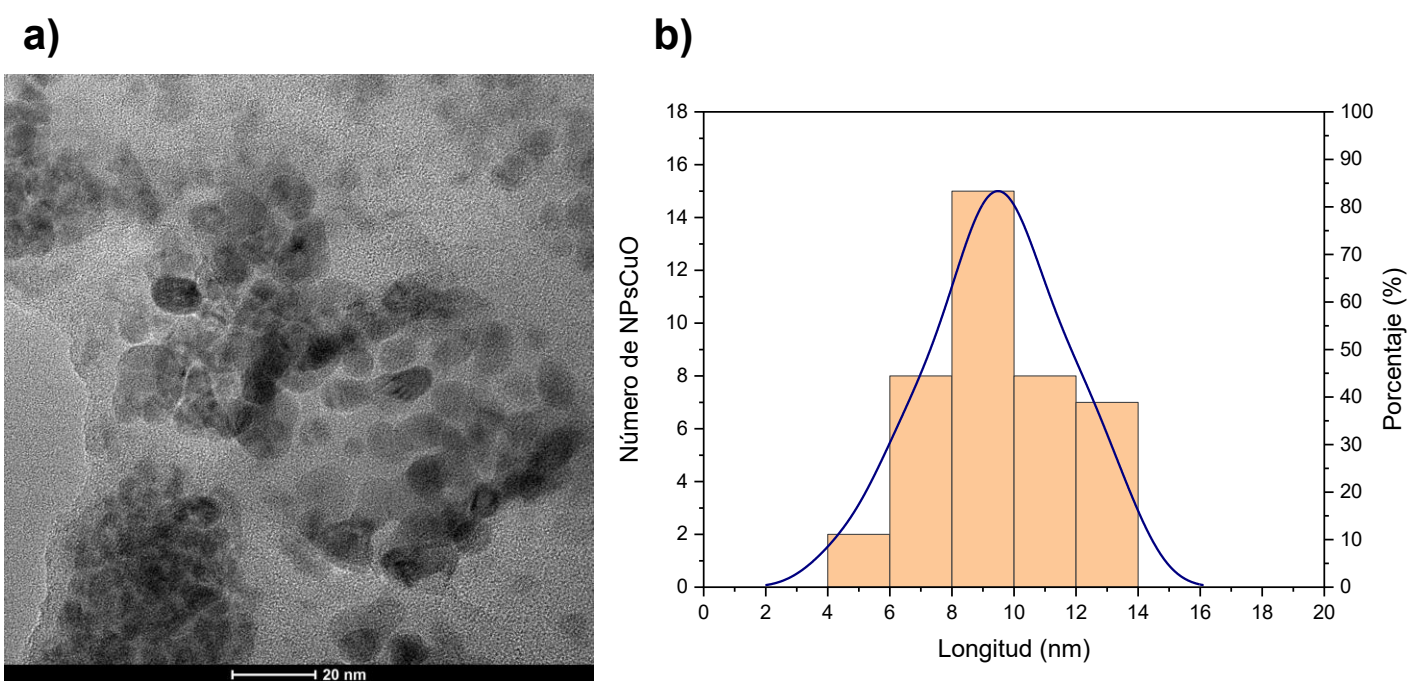


Figura 9. a) Micrografía TEM de las NPs/CuO sintetizadas. b) Histograma de distribución de tamaño de partícula de las NPs/CuO.

Adicionalmente, el producto se caracterizó por FTIR para estudiar la naturaleza de los enlaces presentes en las nanopartículas, así como verificar la presencia de los grupos hidroxilos en la superficie para la posterior funcionalización con el agente organosilano. La Figura 10 muestra los espectros correspondientes a esa técnica. El espectro de NPs/CuO muestra una señal ubicada en 3440 cm^{-1} asociada a la vibración del enlace O-H [96]. Además, las bandas localizadas en 607 cm^{-1} y 493 cm^{-1} se relacionan la formación del enlace Cu-O [97]. Por otro lado, el espectro correspondiente a las NPs/CuO@VS muestra señales en 1603 y 1408 cm^{-1}

correspondientes a las vibraciones de los grupos C=C del vinilo [98], [99]. La señal 1190 cm^{-1} está relacionada con los grupos Si-OCH₃, su intensidad débil indica que

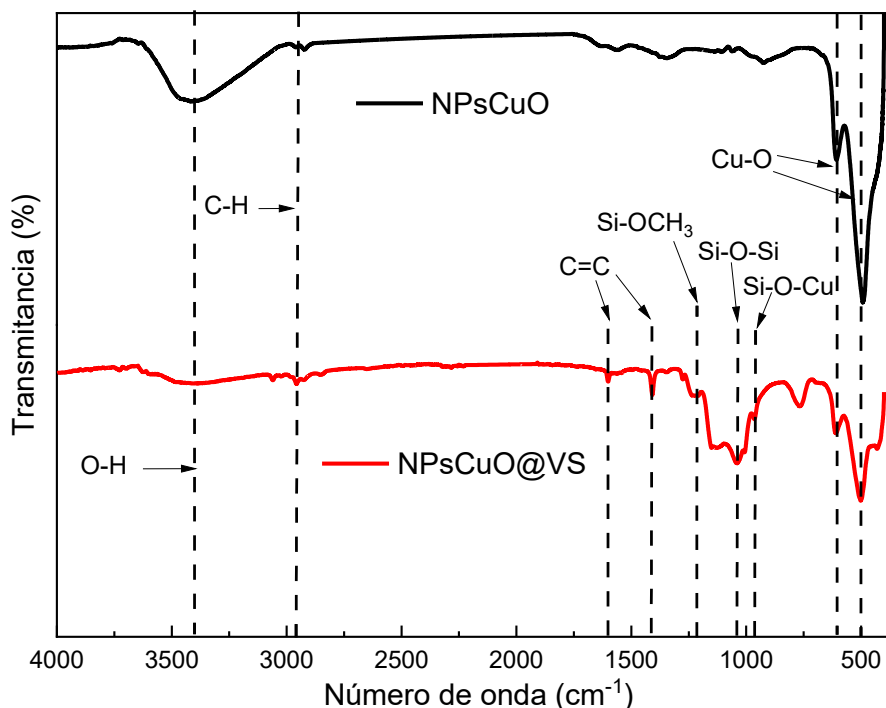


Figura 10. Espectros correspondientes a NPsCuO y NPsCuO@VS.

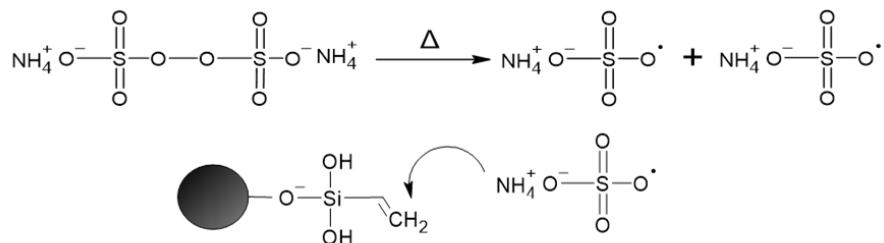
la mayoría de los grupos metoxi (OCH₃) del VTMS fueron hidrolizados, evidenciando una funcionalización exitosa [100]. Asimismo, la banda en 1057 cm^{-1} corresponde al estiramiento de los enlaces Si-O-Si [101], mientras que la banda en 955 cm^{-1} está relacionada con los enlaces Si-O-Cu, confirmando el anclaje del silano sobre la superficie de las nanopartículas [99].

7.2 Síntesis de nanocompuestos NPsCuO@VS-g-P4VP

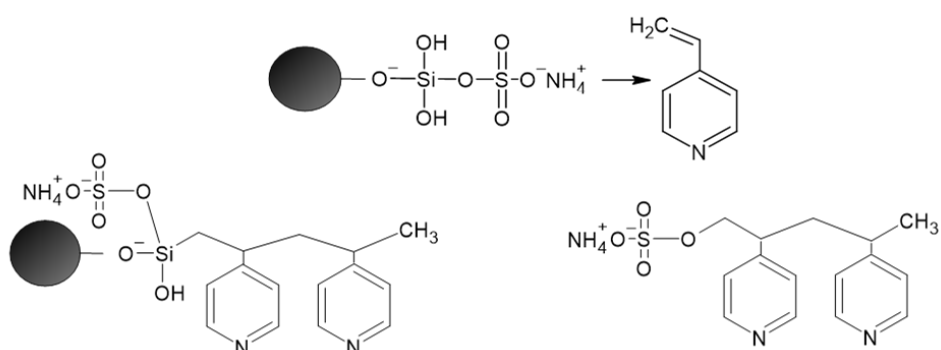
La Figura 11, ilustra el posible mecanismo de síntesis por el cual se injertó P4VP desde la superficie de las nanopartículas de CuO. El primer paso consiste en la descomposición térmica del iniciador, APS, a $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ generando radicales que reaccionarán con los grupos vinilos en la superficie de las NPsCuO@VS. Posteriormente las unidades monoméricas en el medio de reacción se van uniendo a los radicales en la superficie de las NPs y a su vez se forman cadenas independientes. Finalmente, la terminación de la reacción ocurre cuando una

cadena en crecimiento de la superficie del soporte inorgánico se combina con una cadena que creció independientemente [102].

1. Descomposición del iniciador



2. Propagación



3. Terminación

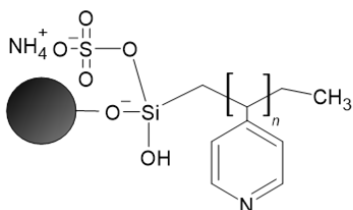


Figura 11. Mecanismo de síntesis de NPsCuO@VS-g-P4VP mediante polimerización por radicales libres.

7.2.1 Efecto de la variación de parámetros de reacción sobre el porcentaje de injerto en NPsCuO@VS-g-P4VP .

7.2.1.1 Efecto de la concentración de monómero.

Para estudiar el efecto de la concentración de 4VP en la mezcla de reacción sobre la cantidad final de injerto se llevaron a cabo una serie de reacciones con diferente concentración: 75, 100 y 150 mM. Mientras que, la cantidad de NPsCuO (150 mg), el tiempo de reacción (24 h) y la cantidad de entrecruzante (5%) se mantuvieron

constantes. La Figura 12 muestra los espectros FTIR correspondientes a las muestras sintetizadas bajo estas condiciones en contraste con las NPsCuO y NPsCuO@VS.

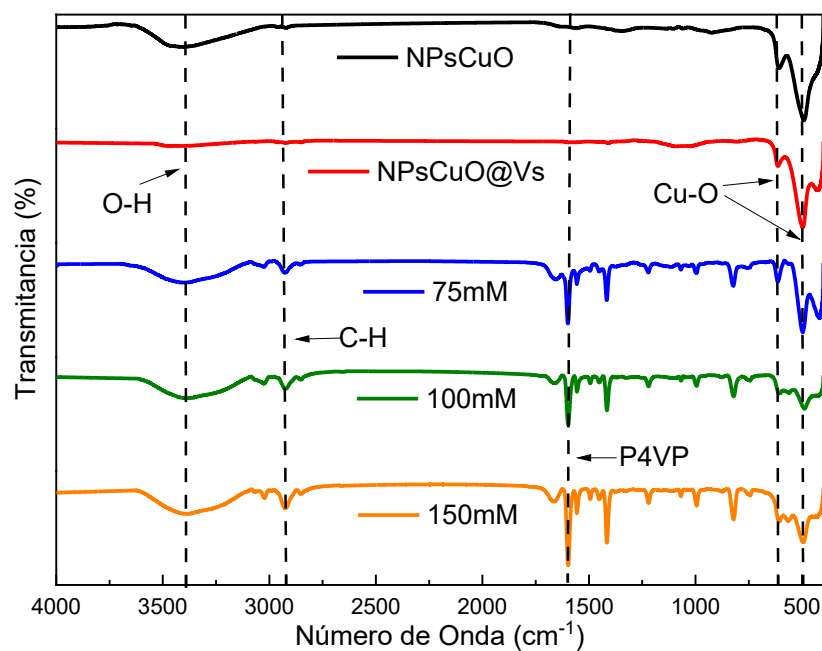


Figura 12. Espectros FTIR correspondientes a los nanocompuestos sintetizados a diferente concentración de monómero.

Los espectros de los nanocompuestos muestran bandas en 2935 cm^{-1} , relacionadas con los grupos CH_2 presentes en las cadenas poliméricas. Por otro lado, la señal observada en 1598 cm^{-1} confirma la presencia del anillo de piridina, además de las señales en 1560 , 1495 y 1415 cm^{-1} correspondientes a las vibraciones y deformaciones del mismo [103]. Asimismo, la ausencia de la banda en 1635 cm^{-1} , característica del estiramiento $\text{C}=\text{C}$ del grupo vinilo del monómero 4VP [104], confirma que la polimerización se llevó a cabo. Se observa que conforme la concentración aumenta, las señales del anillo piridina se vuelven más intensas, mientras que las señales del enlace Cu-O (585 y 517 cm^{-1}) disminuyen. Sugiriendo que, a mayor cantidad de monómero en la mezcla inicial de reacción, se obtiene una mayor cantidad de injerto de P4VP en los nanocompuestos. La Figura A1 corresponde a los difractogramas obtenidos para estas muestras, de manera general dominan las señales correspondientes a los planos cristalinos del CuO , sin

embargo, la intensidad de éstas disminuye a medida que aumenta la concentración inicial con la que se sintetizaron las muestras. También, en el caso de nanocompósito sintetizado con 150 mM se percibe una señal alrededor de los 20° debido a la naturaleza amorfa del polímero.

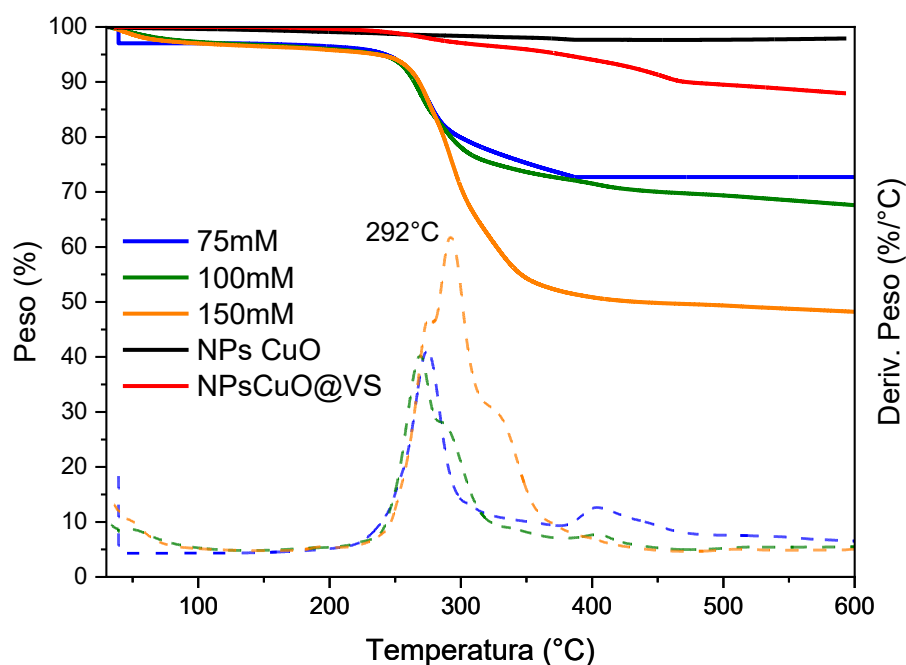


Figura 13. Análisis termogravimétrico de los nanocompósitos sintetizados a diferentes concentraciones de monómero.

Complementariamente, se llevó a cabo un análisis TGA las curvas obtenidas para los nanocompósitos, en comparación con las correspondientes al soporte inorgánico, se muestran en la Figura 13. Los termogramas correspondientes a las muestras NPsCuO@VS-g-P4VP, presentaron una pérdida de peso significativa desde los 275 hasta los 350 °C con un máximo en los 292 °C. De acuerdo con lo reportado en la literatura, esta caída corresponde a la descomposición del injerto polimérico [105]. Posteriormente, se cuantificó el injerto polimérico a través del análisis de las curvas de TGA. Los porcentajes de injerto obtenidos fueron 27, 36 y 54% para las concentraciones de 75, 100 y 150 mM, respectivamente. Esto concuerda con lo reportado por Espinola-Portilla et al., quienes desarrollaron un nanocompósito basado en NPs de óxido de hierro funcionalizadas con P4VP. En dicho trabajo, se identificó una pérdida de peso significativa alrededor de los 300 °C, lo que corresponde a la descomposición de las cadenas laterales de la P4VP.

Para el uso de este tipo de materiales en aplicaciones biomédicas donde se utilizan nanopartículas inorgánicas como soporte en conjunto con una coraza polimérica se ha observado que el mantener una proporción moderada de matriz polimérica: NPs tiende a asegurar una mejor eficiencia de liberación. Por este motivo, para los experimentos que se presentan a continuación se trabajó con una concentración de 4VP de 100 mM.

7.2.1.2 Efecto de la concentración del entrecruzante

Con la finalidad de determinar el efecto de la concentración de entrecruzante en el injerto polimérico se llevaron a cabo una serie de reacciones utilizando diferentes concentraciones de entrecruzante: 0, 5 y 10%. Durante este estudio la cantidad de NPs (150 mg), el tiempo de reacción (24 h) y la concentración de monómero (100 mM) se mantuvieron constantes.

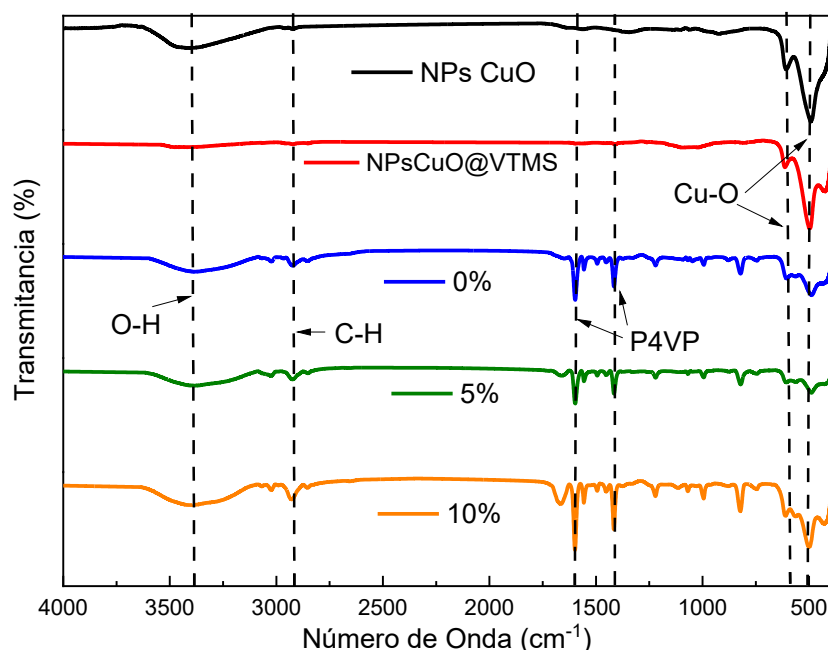


Figura 14. Espectros FTIR correspondientes a los nanocompuestos sintetizados a diferente concentración de entrecruzante.

La Figura 14 muestra los espectros FTIR correspondientes a los diferentes nanocompuestos sintetizados bajo las condiciones previamente mencionadas. Los espectros muestran la señal característica de la P4VP en 1598 cm^{-1} . Asimismo, la señal en 1415 cm^{-1} relacionada con el anillo de la piridina incrementa su intensidad

a medida que aumenta la concentración de entrecruzante en la mezcla de reacción. Este comportamiento puede relacionarse a la formación de un mayor número de puntos de entrecruzamiento, los cuales favorecen el desarrollo de una red polimérica más densa sobre la superficie de las NPs, dando como resultado una mayor cantidad de injerto polimérico [106].

Con el objetivo de conocer la cantidad de injerto polimérico obtenido en las muestras se llevó a cabo un análisis termogravimétrico. En la Figura 15 se muestran las curvas TGA para las diferentes muestras. Se obtuvieron 26, 36 y 46% de injerto polimérico para las concentraciones de 0, 5 y 10% respectivamente. Por lo tanto, podemos concluir que la concentración de entrecruzante influye fuertemente en la cantidad de injerto formado sobre las NPs de CuO, esto es consistente con lo reportado en la literatura para sistemas similares.

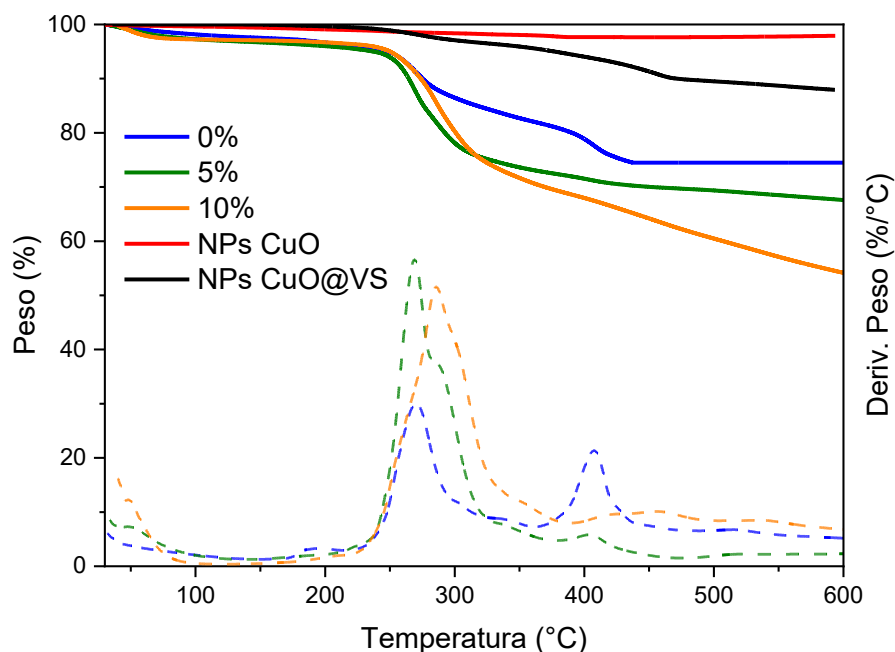


Figura 15. Análisis termogravimétrico de los nanocompuestos sintetizados a diferentes concentraciones de entrecruzante.

7.2.1.3 Efecto de la variación del tiempo

Finalmente, se llevaron a cabo experimentos con diferentes tiempos de reacción: 4, 8, 16 y 24 h. Durante el estudio de este efecto la cantidad de NPs (150 mg), la

concentración de monómero (100 mM) y la concentración de entrecruzante (10%) se mantuvieron constantes. En la Figura 16 se muestran los espectros de FTIR obtenidos para las muestras sintetizadas bajo estas condiciones.

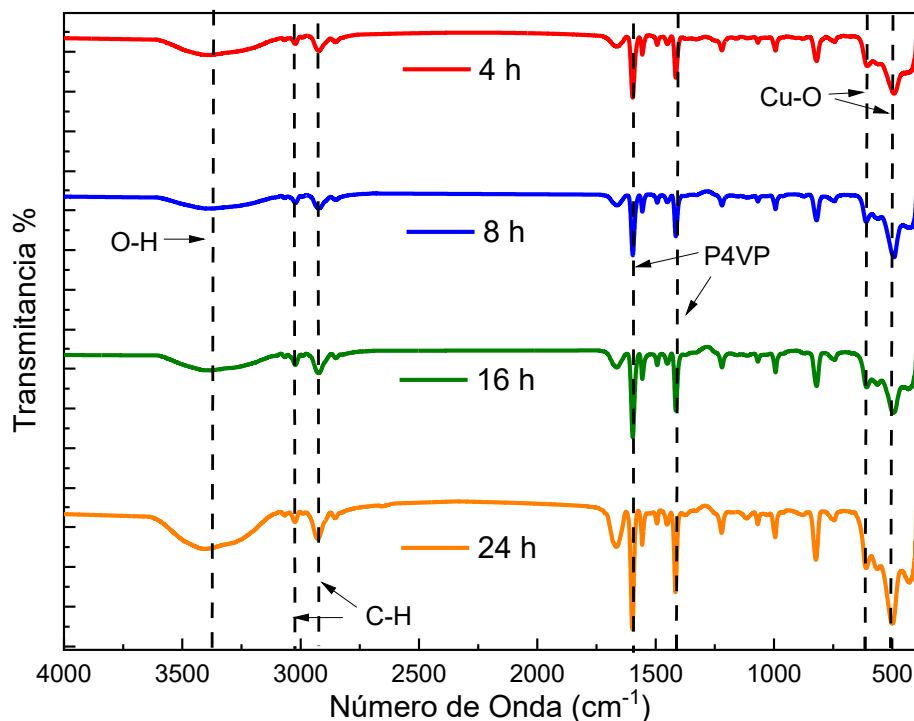


Figura 16. Espectros FTIR correspondientes a los nanocompuestos sintetizados a diferentes tiempos de reacción.

Los espectros muestran señales relacionadas con P4VP en 1598 y 1415 cm^{-1} , las cuales se van intensificando a medida que el tiempo de reacción aumenta. Sugiriendo que el tiempo de reacción incrementa la cantidad de injerto obtenida en la superficie de las NPs. A su vez, se determinó que a partir de las 4 h de reacción ya es posible obtener injerto, y que este alcanza una estabilidad a partir de las 16 h. Este comportamiento puede atribuirse a que el iniciador (APS) se consume gradualmente durante la reacción de polimerización, alcanzando concentraciones bajas a partir de las 10 h [107]. En consecuencia, a diferencia de la concentración del monómero y el entrecruzante, el tiempo no representa un factor determinante en la cantidad de injerto final en el nanocompuesto.

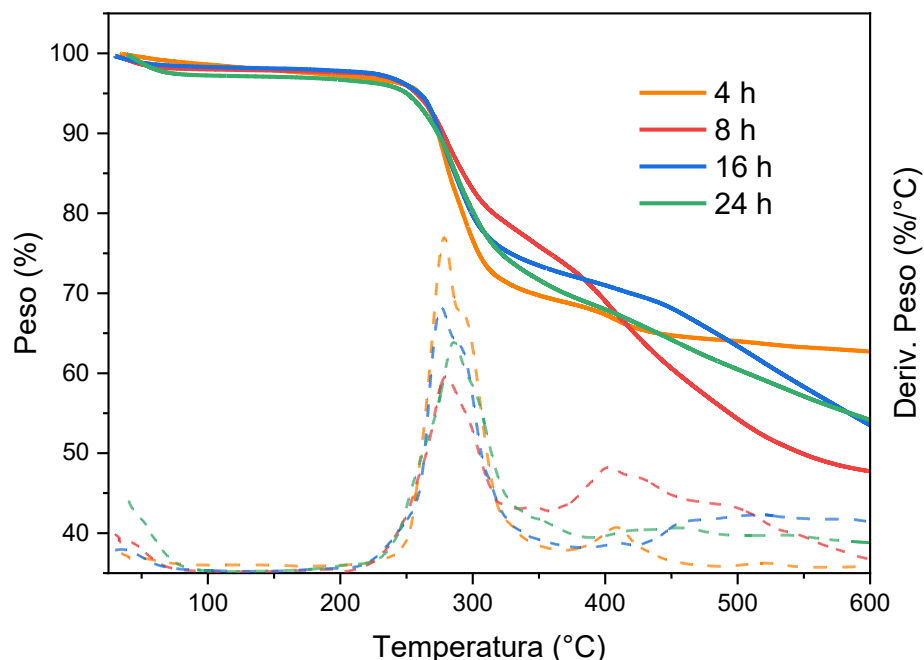


Figura 17. Análisis termogravimétrico de los nanocompuestos sintetizados a diferentes tiempos de reacción.

Adicionalmente, se realizaron análisis termogravimétricos de las muestras sintetizadas a diferentes tiempos de reacción. La Figura 17 muestra la cantidad de injerto obtenida para cada una de las mismas. Los porcentajes de injerto obtenido fueron 38, 53, 47 y 46 % en las muestras de 4, 8, 16 y 24 h respectivamente. La P4VP completa su descomposición alrededor de los 400 °C, por lo tanto, la pérdida de peso observada entre los 500 y 600 °C en la muestra sintetizada a 8 h no corresponde a la descomposición del polímero, sino que podría asociarse a un desperfecto en el artefacto del equipo de medición.

7.2.1.4 Tamaño y estabilidad coloidal

La determinación del tamaño y la estabilidad coloidal a través de diferentes parámetros fisicoquímicos resulta importante en la aplicación de nanocompuestos como acarreadores de fármacos. Con el fin de determinar el diámetro hidrodinámico (D_h) y la estabilidad coloidal en función de diferentes valores de pH se llevaron a cabo estudios de DLS y ζ . La tabla 2 presenta el D_h y ζ para las muestras $\text{NPsCuO@VS-g-P(4VP)}_{5\% \text{NMBA}, 10\% \text{NMBA}}$ y NPs de CuO.

Tabla 2. Diámetro hidrodinámico (Dh), índice de polidispersidad (PDI) y ζ de las NPs CuO y NPsCuO@VS-g-P4VP con diferente concentración de entrecruzante.

Muestra	Dh (nm)	PDI	ζ (mV)
NPs CuO	31±9.6	0.318	-24
NPsCuO@VS-g-P(4VP) _{5%NMBA}	321±143	0.102	+10
NPsCuO@VS-g-P(4VP) _{10%NMBA}	309±54	0.061	-6

Las NPs de CuO sin modificar mostraron un Dh de 30.6 nm mientras que el nanocompósito con 5% de NMBA presentó un Dh promedio de 321 nm con una distribución monodispersa (Figura 18), mientras que la muestra con 10% de NMBA cuenta con un Dh de 309 nm (Figura 19). Estos valores podrían indicar la formación de agregados en la dispersión acuosa, los cuales resultan de menor tamaño para NPsCuO@VS-g-P(4VP)_{10%NMBA}. Dicho comportamiento está relacionado con factores como: la hidrofobicidad de la P4VP y la menor cantidad de entrecruzante en la red polimérica [108]. El NMBA es un agente entrecruzante cuya molécula contiene el grupo funcional amida, con esto le es posible formar puentes de hidrógeno y aumentar el carácter hidrofílico de la red [109].

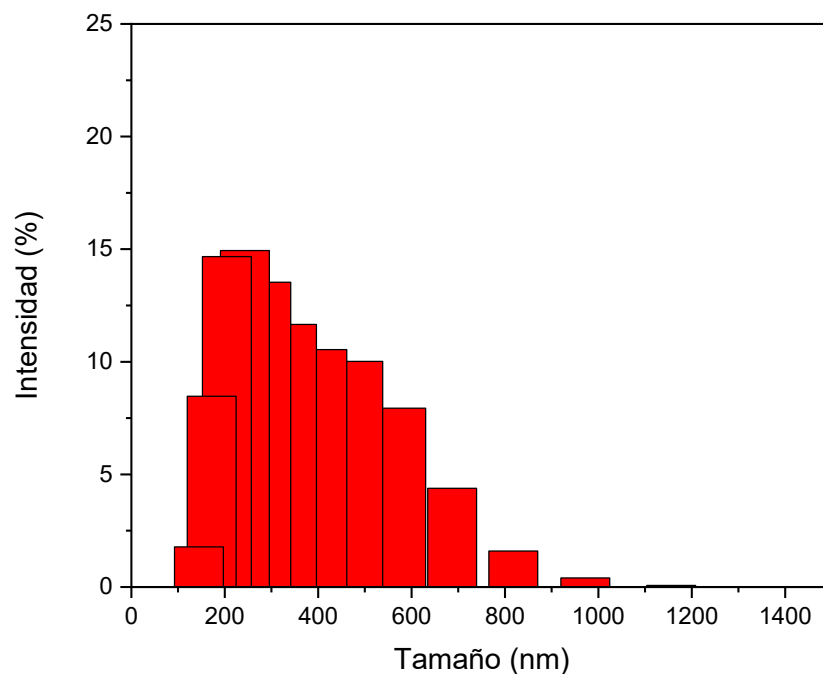


Figura 18. Distribución del Dh de las NPsCuO@VS-g-P4VP_{5%}NMBA determinadas por DLS.

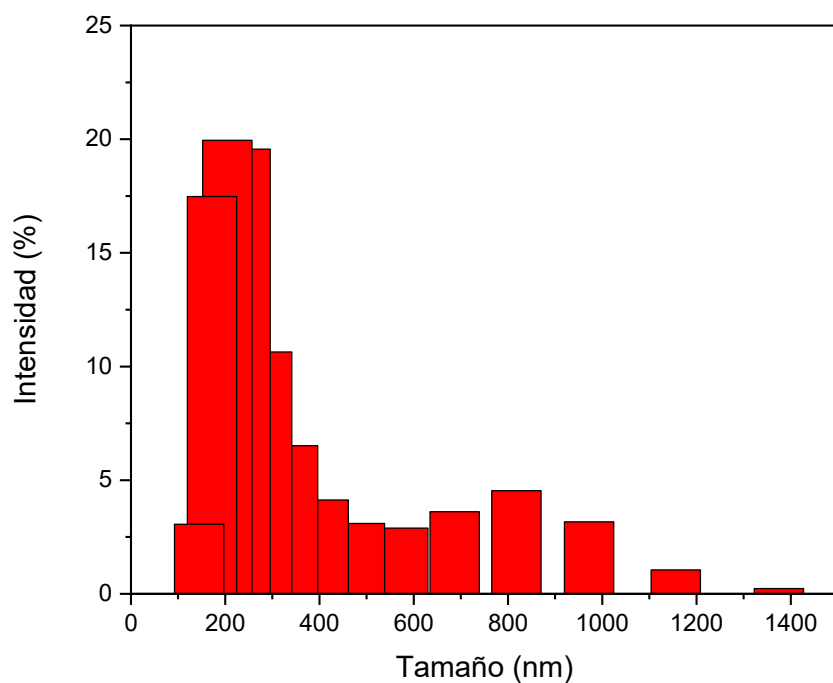


Figura 19. Distribución del Dh de las NPsCuO@VS-g-P4VP_{10%}NMBA determinadas por DLS.

Por otro lado, se obtuvieron los valores de pH de respuesta para ambos sistemas a través de la determinación del punto isoeléctrico. Las Figuras 20 y 21 muestran la variación del ζ en función del pH. Para la muestra de 5% de NMBA se determinó un pKa de 5.30, mientras que para la muestra de 10% de NMBA se obtuvo un pKa de 4.58. Esto debido a que una menor cantidad de entrecruzante genera cadenas poliméricas más largas con mayor movilidad, lo que se traduce en una red polimérica más abierta y flexible. En este caso, los grupos piridina se encuentran más expuestos al medio acuoso, facilitando su interacción con los protones presentes en el medio permitiendo su protonación a un pH más elevado [110].

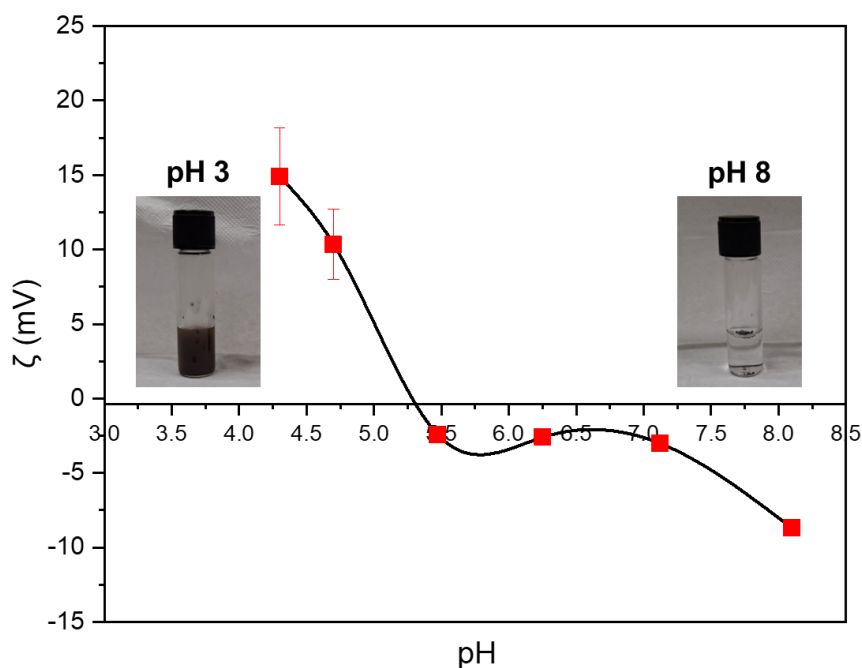


Figura 20. Potencial zeta (ζ) en función del pH para NPsCuO@VS-g-P4VP_{5%}NMBA.

Por el contrario, una mayor cantidad de entrecruzante produce cadenas poliméricas más cortas y con menor movilidad, generando una red más compacta y densa. En estas condiciones, los grupos piridina quedan confinados dentro de la red polimérica reduciendo su accesibilidad al medio acuoso y dificultando su interacción con los protones de la solución. Como consecuencia, se requiere un pH más bajo para lograr la protonación de dichos grupos, disminuyendo el valor del pKa. Este

comportamiento concuerda con lo reportado en la literatura, donde el aumento en la densidad de entrecruzamiento se asocia con una disminución en la movilidad de los segmentos de cadena y una menor accesibilidad de los grupos ionizables [111].

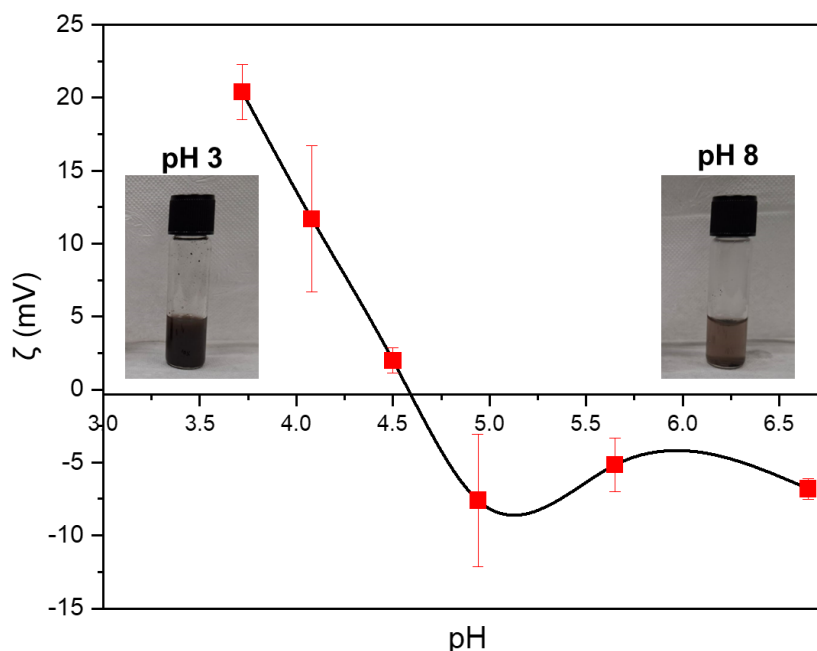


Figura 21. Potencial zeta (ζ) en función del pH para NPsCuO@VS-g-P4VP_{10%}NMBA.

7.3 Determinación de la capacidad de carga de DOX

Con el fin de evaluar la aplicación de los nanocompuestos como acarreadores de fármacos anticancerígenos se utilizó la DOX como fármaco modelo. La Figura 22 muestra la cinética de carga para las muestras NPsCuO@VS-g-P4VP 5%, 10% NMBA, se encontró que la capacidad máxima de carga de DOX se da a las 96 h en ambos casos. Sin embargo, la muestra con 10% de entrecruzante logró cargar una cantidad de 1.034×10^{-2} mg DOX/ mg NHs en contraste con la muestra con 5% de entrecruzante que cargó 8.646×10^{-3} mg DOX/ mg NHs.

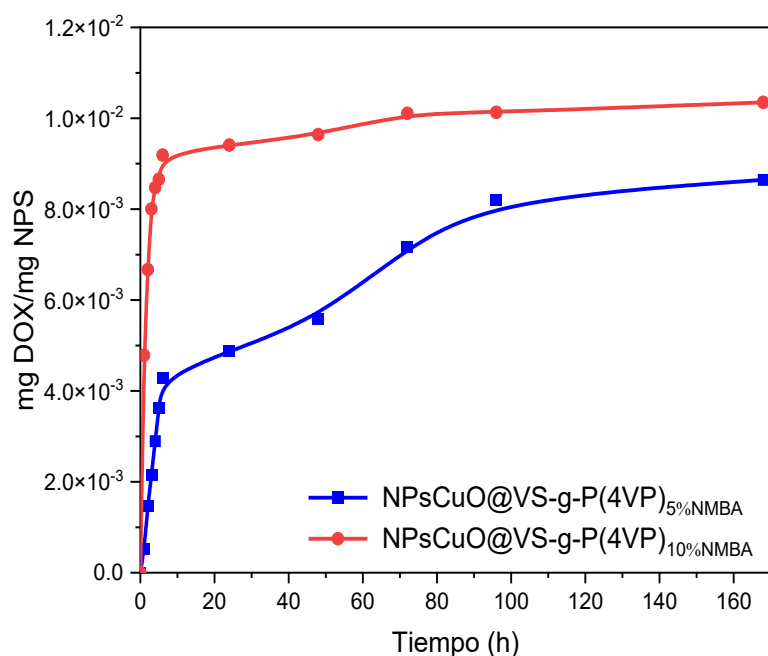


Figura 22. Cinética de carga de DOX para NPsCuO@VS-g-P4VP_{5%,10%NMBA}.

Esta diferencia puede ser explicada debido a que la muestra con mayor contenido de NMBA, es considerablemente más hidrofílica lo que le permite una mejor dispersión en la solución de DOX y, por lo tanto, aumenta la probabilidad de interacciones entre el fármaco y los grupos funcionales del polímero [112]. Por consiguiente, el mecanismo de carga de DOX en el injerto polimérico, principalmente, dependerá de dos factores: 1. Difusión del fármaco dentro de la red polimérica, 2. Formación de puentes de hidrógeno entre grupos NH, C=O, imina, presentes en el polímero, y fenoles y aminos propios de la molécula de DOX (Figura 23).

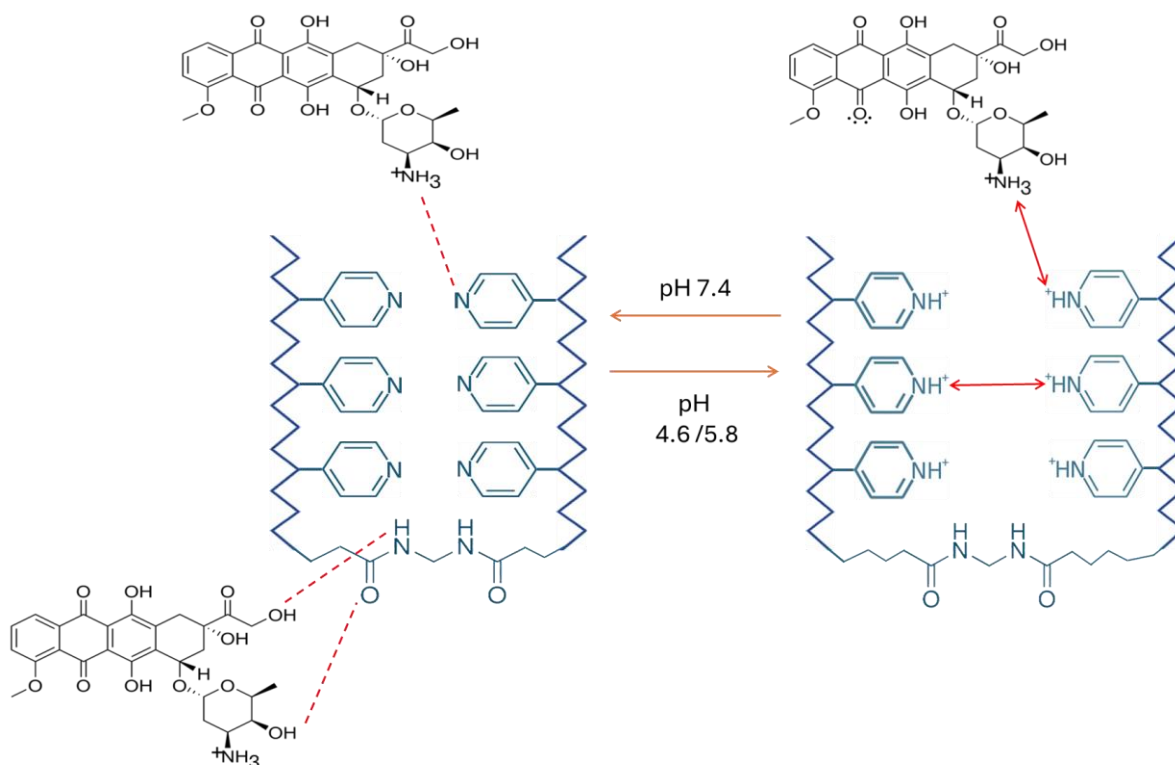


Figura 23. Representación esquemática del mecanismo de carga y liberación del fármaco, donde los grupos piridina en medio ácido favorecen la liberación controlada.

7.4 Ensayos de Liberación *in vitro* de DOX

Las Figuras 24 y 25 muestran los perfiles de liberación de DOX para los nanocompuestos sintetizados con 5 y 10% de entrecruzante, respectivamente. En ambos nanoacarreadores se muestra una eficiencia máxima de liberación (39 y 34%, respectivamente) alcanzada a un pH de 4.6. Esto es consistente con la respuesta al pH proporcionada por los grupos piridina presentes en las cadenas poliméricas (Figura 23). La ligera diferencia de 5% favorable para el sistema NPsCuO@VS-g-P4VP podría deberse a que una menor densidad de la red polimérica (menos puntos de entrecruzamiento) promueve una difusión menos obstaculizada del fármaco fuera de la red. Asimismo, se puede notar que en el caso de los dos nanoacarreadores no se percibe liberación de la DOX a un pH fisiológico, apoyando la hipótesis anterior.

Por otro lado, para la muestra con 5% de NMBA a condiciones de pH 5.8 se observa una liberación máxima de 27%, significativamente menor a la exhibida en

condiciones de pH 4.6. Este comportamiento se atribuye a el valor d pH 5.8 se encuentra por encima del pKa (5.3) determinado experimentalmente para este nanocompósito. Por lo que una proporción menor al 50% de los grupos piridina presentes se encontrarían protonados y la fuerza de repulsión electrostática tendría menos intensidad en comparación con la proporcionada a pH 4.6 [113], [114].

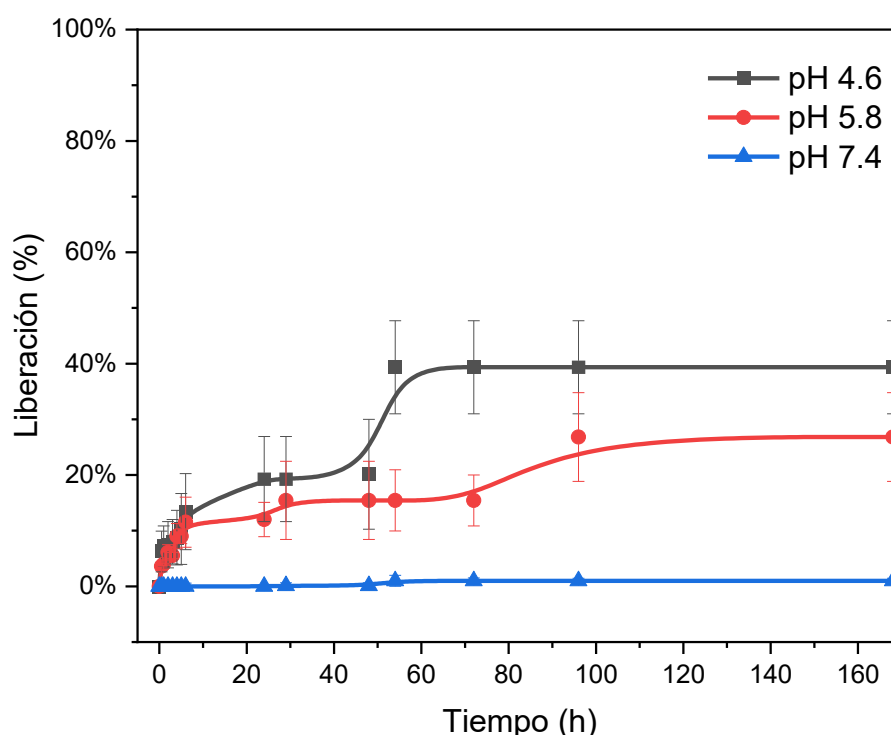


Figura 24. Cinética de liberación in vitro de DOX en NPsCuO@VS-g-P4VP_{5%}NMBA a diferentes condiciones de pH.

En la Figura 25 se pueden apreciar los porcentajes de liberación de DOX, obtenidos bajo diferentes condiciones de pH, correspondientes al nanocompósito sintetizado a partir del 10% de NMBA. En este caso, a un valor de pH 5.8, se obtuvo un porcentaje de liberación de 32%, solo un 2% por debajo de la eficiencia mostrada a pH 4.6. El perfil de liberación a pH 5.8 logró estabilizarse hasta las 168 h, en contraste con el correspondiente a pH 4.6, el cuál alcanzó la máxima eficiencia en las primeras 48 h. Lo anterior puede atribuirse a que, un menor valor de pH aumenta la solubilidad de la DOX, por lo que la velocidad de liberación puede incrementarse de 2 a 3 veces dependiendo de la acidez del medio [115]. Asimismo, un entorno con pH inferior al pKa del nanocompósito induce una mayor protonación de sus grupos

funcionales, lo que debilita las interacciones electroestáticas y favorece la liberación del fármaco [116].

Para la administración intravenosa de este tipo de nanoacarreadores se requiere que el sistema presente una baja probabilidad de liberación durante la circulación sistémica, así como la liberación sostenida y controlada una vez acumulado en el sitio tumoral [117]. En un estudio llevado a cabo por Bort, et al. realizaron un ensayo clínico en animales utilizando AGuIX®, un sistema compuesto por nanopartículas de polisiloxano y quelatos de gadolinio. Durante el ensayo se evaluó la acumulación pasiva por efecto EPR, encontrando que este fenómeno comienza a los 20 minutos tras haber aplicado la inyección y alcanzando una retención de 24 a 72 h. Por ello, un perfil de liberación que se extiende hasta las 168 h resulta inadecuado, mientras que los que aquellos que logran estabilizarse en un periodo de 48 h permiten que la liberación del fármaco coincida con el tiempo de retención del efecto EPR [118].

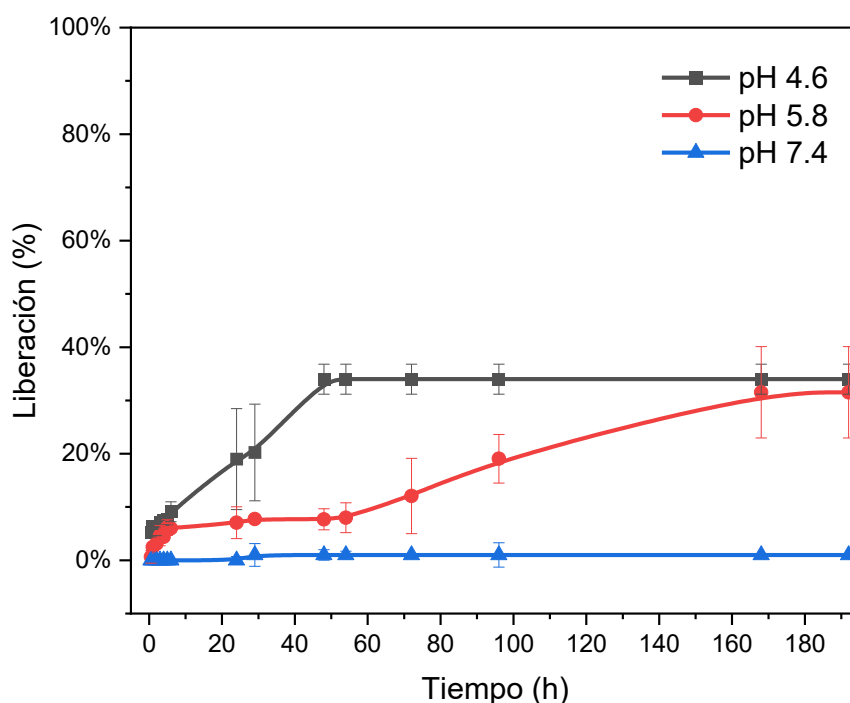


Figura 25. Cinética de liberación in vitro de DOX en NPsCuO@VS-g-P4VP_{10%}NMBA a diferentes condiciones de pH.

Asimismo, el hecho de que la muestra NPsCuO@VS-g-P4VP_{10%}NMBA a pH 5.8, valor por encima del pKa, es capaz de alcanzar el mismo porcentaje de liberación que en

la condición de pH 4.6, puede atribuirse a la alta estabilidad coloidal proporcionada por el mayor contenido de NMBA. Este comportamiento se debe a los grupos carboxilo y amino, mismos que, al formar puentes de hidrógeno en el medio acuoso previenen la agregación de partículas, con esto, una mayor área superficial se encuentra disponible para la difusión del fármaco durante todo el experimento [119]. De esta forma, aunque la liberación ocurre de forma gradual, eventualmente el sistema es capaz de alcanzar un porcentaje de liberación similar al obtenido en valores de pH menores al pKa.

En conclusión, se demuestra que la liberación del fármaco se encuentra relacionada con dos factores principales: la repulsión electrostática que se produce durante el proceso de liberación y la mejora en la hidrofiliidad que los grupos funcionales del NMBA confieren al sistema, siendo ambos puntos clave para determinar el perfil de liberación del nanocompósito.

7.5 Modelado de la cinética de liberación

Los perfiles cinéticos de liberación se ajustaron a cuatro distintos modelos matemáticos, con el fin de encontrar el mecanismo que rige la liberación de DOX. La Tabla 3 muestra los parámetros calculados a partir de los perfiles correspondientes al nanocompósito NPsCuO@VS-g-P4VP_{5%}NMBA. Se puede observar que para las condiciones de pH 4.6 y 5.8 los perfiles se ajustan mejor al modelo de Korsmeyer-Peppas. Este modelo semi-empírico se utiliza para evaluar la liberación de fármacos a partir de matrices poliméricas [120]. Dónde, el valor de n describe el mecanismo de transporte específico que se lleva a cabo. Un valor menor a 0.45 está relacionado con difusión Fickiana impedida; en la cual, es el gradiente de concentración el que impulsa la liberación del fármaco, con una pequeña fuerza que se opone a esta difusión libre, que en este caso es

proporcionada por las fuerzas de interacción proporcionadas por la matriz polimérica sensible al pH.

Tabla 3. Cinética de liberación en diferentes modelos matemáticos para NPsCuO@VS-g-P4VP_{5%NMBA}

NPsCuO@VS-g-P4VP _{5%NMBA}	Orden Cero		Primer Orden		Higuchi		Korsmeyer-Peppas		
pH	K ₀	R ²	K ₁	R ²	K _k	R ²	K _k	n	R ²
4.6	2.42x10 ⁻³	0.74	1.20x10 ⁻²	0.682	2.61x10 ¹	0.874	6.36x10 ⁻²	0.371	0.927
5.8	1.13x10 ⁻³	0.913	8.52x10 ⁻³	0.711	5.83x10 ¹	0.947	4.54x10 ⁻²	0.314	0.951
7.4	7.51x10 ⁻⁵	0.752	-3.96x10 ⁻¹	0.483	7.58x10 ²	0.698	2.08x10	-0.113	0.576

La Tabla 4 muestra los coeficientes calculados para los perfiles de la muestra NPsCuO@VS-g-P4VP_{10%NMBA}. Se puede observar que bajo condiciones de pH 4.6, se da un mejor ajuste al modelo de Korsmeyer-Peppas, donde n (0.41) es consistente con la difusión Fickiana, este valor se encuentra en los límites de este con el relacionado al transporte anómalo ($0.45 < n < 1$). Esta toma en cuenta que la liberación se da gracias a la difusión, en conjunto con una fuerza adicional. Por otro lado, para el pH 5.8 el modelo que más se ajusta es el de orden cero. Mostrando una liberación lenta y constante, independiente de la concentración. Esto se atribuye a que la fuerte reticulación de la matriz polimérica impide la liberación del fármaco atrapado [121].

Tabla 7. Cinética de liberación en diferentes modelos matemáticos para NPsCuO@VS-g-P4VP_{10%NMBA}

NPsCuO@VS-g-P4VP _{10%NMBA}	Orden Cero		Primer Orden		Higuchi		Korsmeyer-Peppas		
pH	K ₀	R ²	K ₁	R ²	K _k	R ²	K _k	n	R ²
4.6	2.17x10 ⁻³	0.675	1.27x10 ⁻²	0.625	2.77x10 ¹	0.871	5.19x10 ⁻²	0.410	0.934
5.8	1.55x10 ⁻³	0.962	1.34x10 ⁻²	0.689	4.19x10 ¹	0.873	1.19x10 ⁻²	0.481	0.865
7.4	8.06x10 ⁻⁵	0.588	-3.43x10 ⁻¹	0.380	6.53x10 ²	0.763	1.66x10	-0.123	0.703

En conclusión, condiciones menores al pKa de la matriz (4.6) de P4VP la liberación de la DOX se relaciona con la relajación de la matriz polimérica, mientras que a pH 5.8 es la reticulación de la red que actúa como reguladora [122]. Por otro lado, en condiciones de pH fisiológico la matriz polimérica no incurre en cambios que estimulen la liberación.

7.6 Pruebas de citotoxicidad *in vitro*

Un paso crucial para la implementación de nanomateriales híbridos como posibles nanoacarreadores de fármacos, es la determinación de su actividad biológica. Para esto se llevan a cabo ensayos de viabilidad celular *in vitro*. En el presente trabajo se utilizó una línea celular de fibroblastos (CDD Sk 1132) en contraste con células de adenocarcinoma mamario triple negativo (MDA-MB-231) en contacto con los diferentes tratamientos (NPsCuO@VS-g-P4VP_{5,10%}NMBA, NPsCuO@VS-g-P4VP_{5,10%}NMBA -DOX, NPsCuO y DOX libre). Posteriormente, se evaluó la viabilidad celular después de la exposición, mediante un ensayo colorimétrico MTT el cual mide indirectamente la actividad metabólica de las células por su capacidad de reducir una sal de tetrazolio a cristales de formazán, una vez determinada la concentración de este último para las poblaciones de células que estuvieron en contacto con los tratamientos, esta se compara con controles que no tuvieron contacto con los materiales a evaluar, y finalmente se determina el porcentaje de células metabólicamente activas.

Las Figuras 26 y 27 muestran los resultados de viabilidad celular en función de la concentración para los diferentes tratamientos. Estas se muestran a manera de curvas concentración-respuesta y se encuentra señalado el valor de 50% de viabilidad con el fin de visualizar el límite en el que un material se considera citotóxico asociada a la concentración inhibitoria (CI₅₀). En primera instancia las NPsCuO demostraron disminuir la viabilidad celular de manera importante, incluso en las menores concentraciones probadas. Esto está asociado a los diferentes mecanismos de muerte celular reportados en la literatura (Mundekkad *et al.*, 2022; Wang *et al.*, 2024; Galindo *et al.*, 2025) que induce la internalización de este tipo de nanopartículas a nivel celular. Sin embargo, los nanocompuestos exhiben un comportamiento distinto. De manera general, se observa una mayor

biocompatibilidad en comparación con las NPsCuO. Esto podría atribuirse a la presencia de injerto de P4VP, el cual parece regular la toxicidad intrínseca del CuO.

Por otro lado, se puede observar que los nanocompuestos NPsCuO@VS-g-P4VP_{5,10%NMBA} y NPsCuO@VS-g-P4VP_{5,10%NMBA}-DOX disminuyen en mayor medida la viabilidad, en el caso de la línea celular cancerosa, ya que los valores CI_{50} (Tabla 5) son menores que las calculadas para la línea celular CCD Sk 1132. El valor CI_{50} se refiere a la concentración de un compuesto necesaria para inhibir el 50% de la viabilidad celular, siendo utilizado para evaluar la efectividad de compuestos terapéuticos[123]. En sistemas de nanocompuestos, su determinación permite comparar el potencial citotóxico del fármaco encapsulado contra el fármaco libre, además de evaluar la selectividad del sistema hacia células tumorales en comparación con células sanas [124].

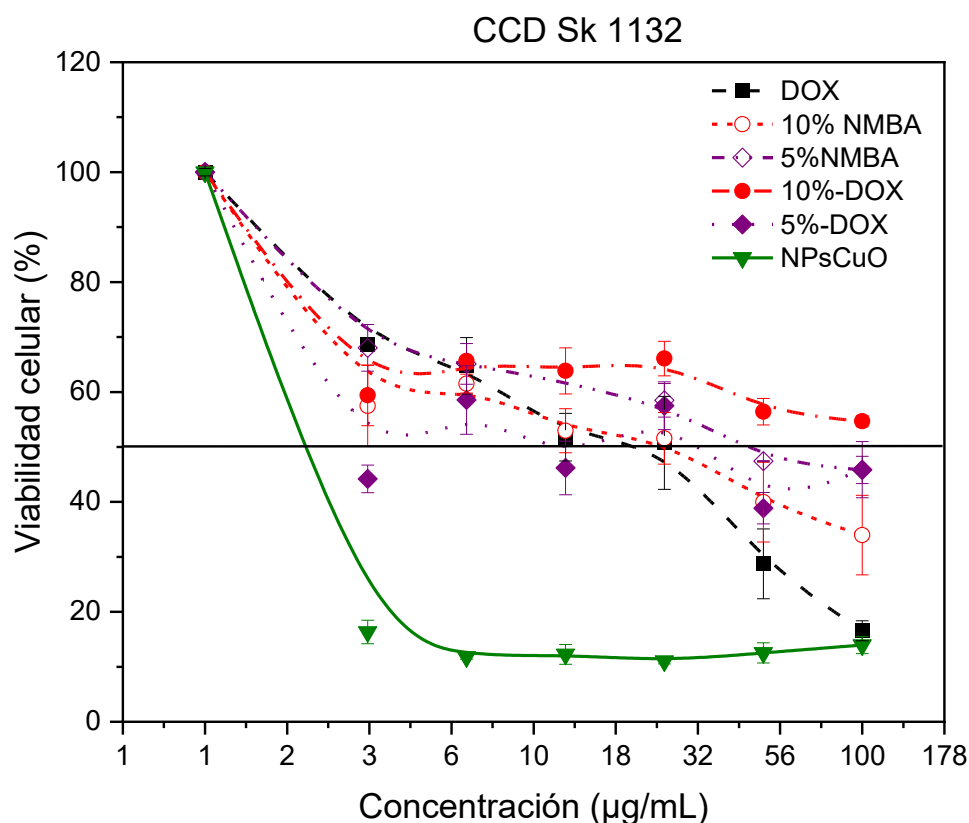


Figura 26. Curvas de viabilidad celular en función de la concentración de los tratamientos evaluados mediante el ensayo MTT para CCD Sk 1132.

Por su parte, el nanocompósito con 5% de NMBA, cargado con DOX exhibe una actividad citotóxica potenciada en comparación con la DOX libre (CI_{50}). Esto podría estar relacionado a un efecto sinérgico entre el CuO y la DOX. La formación de complejos entre la DOX y los iones Cu^{2+} favorece la generación de ROS, lo que aumenta el daño oxidativo intracelular [125]. Este mecanismo se complementa con la capacidad de DOX de causar daños en el ADN, produciendo mayor toxicidad y eficiencia terapéutica [126].

Además, al comparar las muestras $NPsCuO@VS-g-P4VP_{5\%NMBA}$ con su contraparte cargada con DOX se observa una diferencia significativa en cuanto a la reducción de viabilidad celular respecto a las concentraciones, lo cual no ocurre para el nanocompósito con 10% de NMBA. Esto podría indicar que la menor densidad de entrecruzamiento permitiría que la DOX se difunda en mayor cantidad respecto al nanocompósito con mayor grado de entrecruzamiento.

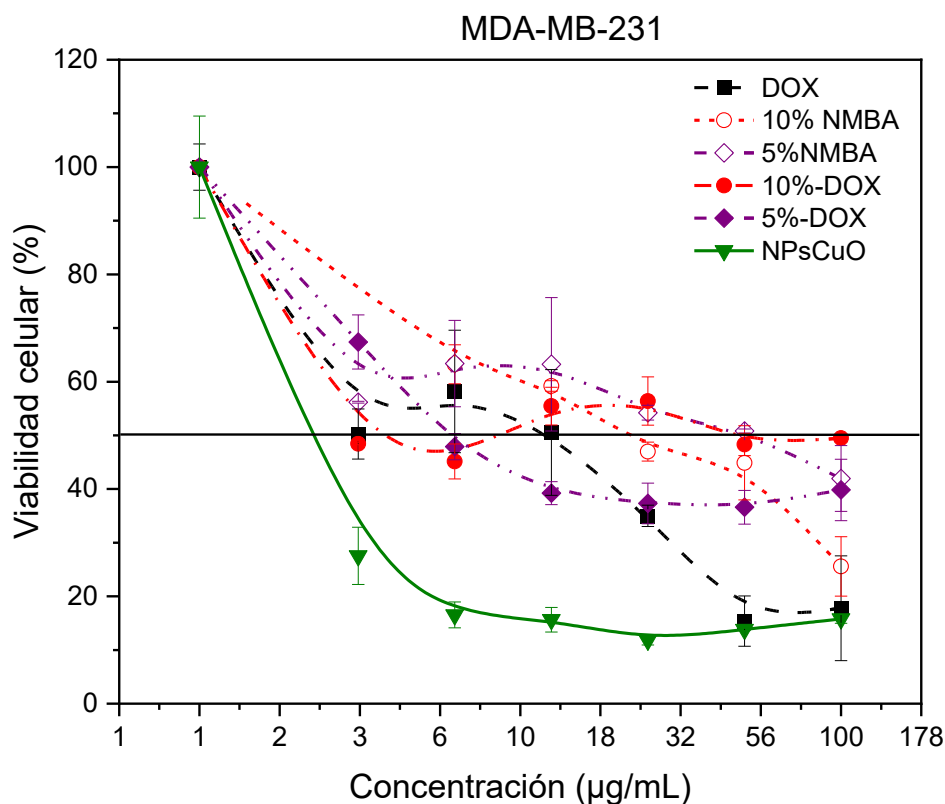


Figura 27. Curvas de viabilidad celular en función de la concentración de los tratamientos evaluados mediante el ensayo MTT para MDA-MB-231.

Tabla 11. Comparativa de valores CI_{50} ($\mu\text{g/mL}$) de NPsCuO , DOX libre, $\text{NPsCuO@VS-g-P4VP}_{5\%,10\%\text{NMBA}}$ y $\text{NPsCuO@VS-g-P4VP}_{5\%,10\%\text{NMBA-DOX}}$ en líneas celulares sanas y tumorales.

Muestra	CCD Sk 1132	MDA-MB-331
NPsCuO	2.036	2.258
DOX	19.765	11.773
NPsCuO@VS-g-P4VP_{5%NMBA}	44.513	48.284
NPsCuO@VS-g-P4VP_{10%NMBA}	24.000	21.923
NPsCuO@VS-g-P4VP_{5%NMBA-DOX}	30.913	6.135
NPsCuO@VS-g-P4VP_{10%NMBA-DOX}	-	45.997

Capítulo VIII- Conclusiones y Perspectiva a futuro

Se comprobó el injerto de P4VP sobre la superficie de las NPs de CuO, la caracterización del nanocompósito por medio de FTIR, TGA, DLS y potencial Z permitió confirmar la modificación superficial de las nanopartículas.

Además, se determinó que una concentración de 100 mM favorece una cantidad de injerto moderada, útil para la aplicación eficiente del material como nanoacarreador de fármacos. El estudio del efecto de la cantidad de entrecruzante demostró ser el factor determinante para la cantidad de injerto de P4VP, debido a al incremento de los puntos de entrecruzamiento, creando una red polimérica más densa.

La evaluación del potencial Z determinó la estabilidad coloidal del nanocompósito, mostrando que los sistemas con mayor cantidad de entrecruzante presentaron una mayor estabilidad coloidal, pues este aporta grupos con la capacidad de formar puentes de hidrógeno. Por otro lado, las mediciones realizadas a diferentes valores de pH permitieron identificar el punto isoeléctrico de nanocompósitos sintetizados con diferentes porcentajes de entrecruzante, el cual se desplaza con este factor. Estos resultados confirman que los nanoacarreadores poseen comportamiento pH-responsivo dentro del rango del microambiente tumoral y otras estructuras biológicas.

Al evaluar la capacidad de carga se determinó que el incremento en la concentración de entrecruzante mejora la capacidad de carga del sistema, debido a que la red polimérica del nanocompósito presenta mayor densidad y estabilidad en dispersión acuosa, reteniendo mejor el fármaco.

Los perfiles de liberación *in vitro* mostraron mayor liberación en los nanocompósitos con menor cantidad de NMBA, esto se atribuye a que en aquellos nanoacarreadores con mayor proporción de entrecruzante la estructura de la red polimérica limita la liberación del fármaco. Además, se determinó que las condiciones de pH menores a 5 promueven una mayor eficiencia de liberación, debido a la protonación de los grupos piridina de las cadenas poliméricas.

Finalmente, las pruebas de citotoxicidad *in vitro* demostraron que los nanocompuestos presentan una biocompatibilidad superior en comparación con las NPs de CuO. Asimismo, la citotoxicidad de los nanoacarreadores aumentó significativamente en la línea celular cancerosa, en comparación con la línea celular sana, sugiriendo que los nanocompuestos tienen selectividad hacia las células malignas.

Los resultados anteriores indican que la concentración de entrecruzante es el parámetro que determina la composición, estabilidad coloidal y eficiencia de los nanocompuestos en la aplicación propuesta. Esto se debe a la naturaleza hidrofóbica de la P4VP. Además, los nanoacarreadores propuestos en este trabajo presentan una alternativa prometedora para la liberación de fármacos controlada por el pH. Es necesario continuar con la investigación y realizar pruebas que permitan evaluar el comportamiento del nanocompuesto en sistemas biológicos más complejos.

Capítulo IX- Referencias Bibliográficas

- [1] F. Bray *et al.*, “Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries”, *CA Cancer J. Clin.*, vol. 74, núm. 3, 2024, doi: 10.3322/caac.21834.
- [2] INEGI, “‘Estadísticas a Propósito Del... Día Mundial Contra El Cáncer (4 De Febrero)’ Datos Nacionales”, *Comunicado de prensa Num. 105/21*, núm. 2021, 2022.
- [3] A. Zafar, S. Khatoon, M. J. Khan, J. Abu, y A. Naeem, “Advancements and limitations in traditional anti-cancer therapies: a comprehensive review of surgery, chemotherapy, radiation therapy, and hormonal therapy”, 2025. doi: 10.1007/s12672-025-02198-8.
- [4] S. Sabzehali, “Issue 1 Citation S Sabzehali, Nanomaterials in Drug Delivery Systems: Challenges and Perspectives”, 2025. [En línea]. Disponible en: <https://doi.org/EJCMPR/202456497>
- [5] P. Theivendren *et al.*, “Revolutionizing Cancer Immunotherapy: Emerging Nanotechnology-Driven Drug Delivery Systems for Enhanced Therapeutic Efficacy”, 2025. doi: 10.1021/acsmeasuresciau.4c00062.
- [6] Y. Rojas-Aguirre, K. Aguado-Castrejón, y I. González-Méndez, “La nanomedicina y los sistemas de liberación de fármacos: ¿la (r)evolución de la terapia contra el cáncer?”, *Educacion Quimica*, vol. 27, núm. 4, 2016, doi: 10.1016/j.eq.2016.07.002.
- [7] Y. Yao *et al.*, “Nanoparticle-Based Drug Delivery in Cancer Therapy and Its Role in Overcoming Drug Resistance”, 2020. doi: 10.3389/fmolb.2020.00193.
- [8] Pecorino L., “Molecular biology of cancer: mechanisms, targets, and therapeutics. Oxford university press; 2021.”, 2021.
- [9] B. T. Hill, H. Shah, y A. Winter, “Etiology of Cancer”, en *Clinical Ophthalmic Oncology: Basic Principles, Fourth Edition*, 2025. doi: 10.1007/978-3-031-75907-9_3.
- [10] H. Sung *et al.*, “Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries”, *CA Cancer J. Clin.*, vol. 71, núm. 3, 2021, doi: 10.3322/caac.21660.
- [11] Z. Abbas y S. Rehman, “An Overview of Cancer Treatment Modalities”, en *Neoplasm*, 2018. doi: 10.5772/intechopen.76558.

- [12] J. Wang, J. Zhang, X. Dai, C. Yan, y C. Fang, "Computational models for pan-cancer classification based on multi-omics data", 2025. doi: 10.3389/fgene.2025.1667325.
- [13] S. Munquad, B. K. Dash, S. Sengupta, V. Singh, Y. Ushakiran, y A. B. Das, "Biologically explainable multi-omics feature demonstrates greater learning potential by identifying tissue of origin, stages, and subtypes for pan-cancer classification", *Sci. Rep.*, vol. 15, núm. 1, 2025, doi: 10.1038/s41598-025-24352-6.
- [14] S. Dalaf Khalaf, M. M. Mahdi, y R. Shakir Mahmood, "THE CANCER: TYPES, THE MECHANISM OF CANER GROWTH AND DIAGNOSIS: A REVIEW", *World Journal of Pharmaceutical Science and Research*, vol. 3, 2024, doi: 10.5281/zenodo.12658247.
- [15] F. Fend y L. Quintanilla-Martinez, "Hodgkin Lymphoma", en *Hematopathology: A Volume in the Series: Foundations in Diagnostic Pathology*, 2018. doi: 10.1016/B978-0-323-47913-4.00011-2.
- [16] J. Luo *et al.*, "Etiology of non-Hodgkin lymphoma: A review from epidemiologic studies", 2022. doi: 10.1016/j.jncc.2022.08.003.
- [17] A. Saini, M. Kumar, S. Bhatt, V. Saini, y A. Malik, "CANCER CAUSES AND TREATMENTS", *Int. J. Pharm. Sci. Res.*, vol. 11, núm. 7, 2020.
- [18] A. Singh Patel *et al.*, "CANCER OVERVIEW", *Certified Journal | Aman et al. World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, vol. 14, p. 1525, 2025, doi: 10.20959/wjpps20258-30568.
- [19] B. P. Jain y S. Pandey, *Understanding Cancer: From Basics to Therapeutics*. 2022. doi: 10.1016/B978-0-323-99883-3.00027-5.
- [20] R. Waykar y S. Kumarapillai, "Breast cancer histopathology, classification and clinical management: Current perspectives", *Bioinformation*, vol. 20, núm. 12, 2024, doi: 10.6026/9732063002002069.
- [21] H. Allgayer *et al.*, "Epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) and cancer metastasis: the status quo of methods and experimental models 2025", 2025. doi: 10.1186/s12943-025-02338-2.
- [22] S. Winters, C. Martin, D. Murphy, y N. K. Shokar, "Breast Cancer Epidemiology, Prevention, and Screening", en *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, vol. 151, 2017. doi: 10.1016/bs.pmbts.2017.07.002.
- [23] M. Fu *et al.*, "Global, regional, and national time trends in mortality for breast cancer, 1992–2021: an age-period-cohort analysis for the global burden of

disease 2021 study”, *BMC Public Health*, vol. 25, núm. 1, 2025, doi: 10.1186/s12889-025-22855-5.

- [24] X. Zhang, “Molecular Classification of Breast Cancer Relevance and Challenges”, en *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*, 2023. doi: 10.5858/arpa.2022-0070-RA.
- [25] E. Carvalho, S. Canberk, F. Schmitt, y N. Vale, “Molecular Subtypes and Mechanisms of Breast Cancer: Precision Medicine Approaches for Targeted Therapies”, 2025. doi: 10.3390/cancers17071102.
- [26] Z. Inic *et al.*, “Difference between Luminal A and Luminal B subtypes according to Ki-67, tumor size, and progesterone receptor negativity providing prognostic information”, *Clin. Med. Insights Oncol.*, vol. 8, 2014, doi: 10.4137/CMO.S18006.
- [27] Erasmo Orrantia-Borunda, Patricia Anchondo-Nuñez, Lucero Evelia Acuña-Aguilar, Francisco Octavio Gómez-Valles, y Claudia Adriana Ramírez-Valdespino, “Subtypes of Breast Cancer”, *Breast Cancer*, pp. 31–42, 2022, [En línea]. Disponible en: <https://doi.org/10.36255/exon-publications-breast-cancer-subtypes>
- [28] M. F. Mercogliano, S. Bruni, F. L. Mauro, y R. Schillaci, “Emerging Targeted Therapies for HER2-Positive Breast Cancer”, 2023. doi: 10.3390/cancers15071987.
- [29] A. Thomas, J. S. Reis-Filho, C. E. Geyer, y H. Y. Wen, “Rare subtypes of triple negative breast cancer: Current understanding and future directions”, 2023. doi: 10.1038/s41523-023-00554-x.
- [30] N. Elkum *et al.*, “Molecular Subtypes of Breast Cancer in Arab Women: Distribution and Prognostic Insights”, *J. Epidemiol. Glob. Health*, vol. 15, núm. 1, 2025, doi: 10.1007/s44197-025-00376-z.
- [31] J. Wang y S. G. Wu, “Breast Cancer: An Overview of Current Therapeutic Strategies, Challenge, and Perspectives”, 2023. doi: 10.2147/BCTT.S432526.
- [32] A. M. Sebastian y D. Peter, “Artificial Intelligence in Cancer Research: Trends, Challenges and Future Directions”, 2022. doi: 10.3390/life12121991.
- [33] T. Lammers, “Nanomedicine Tumor Targeting”, 2024. doi: 10.1002/adma.202312169.
- [34] L. Wyld, R. A. Audisio, y G. J. Poston, “The evolution of cancer surgery and future perspectives”, 2015. doi: 10.1038/nrclinonc.2014.191.

- [35] K. E. Okhawere *et al.*, “Factors associated with surgical refusal and non-surgical candidacy in stage 1 kidney cancer: a National Cancer Database (NCDB) analysis”, *Canadian Journal of Urology*, vol. 31, núm. 5, 2024.
- [36] K. Wang y J. E. Tepper, “Radiation therapy-associated toxicity: Etiology, management, and prevention”, *CA Cancer J. Clin.*, vol. 71, núm. 5, 2021, doi: 10.3322/caac.21689.
- [37] E. Evans y J. Staffurth, “Principles of cancer treatment by radiotherapy”, 2018. doi: 10.1016/j.mpsur.2017.12.006.
- [38] M. Webster *et al.*, “New Approaches in Radiotherapy”, 2025. doi: 10.3390/cancers17121980.
- [39] M. Shams, S. Abdallah, L. Alsadoun, Y. H. Hamid, R. Gasim, y A. Hassan, “Oncological Horizons: The Synergy of Medical and Surgical Innovations in Cancer Treatment”, *Cureus*, 2023, doi: 10.7759/cureus.49249.
- [40] M. T. Amjad, A. Chidharla, y A. Kasi, “Cancer Chemotherapy Continuing Education Activity”, en *In: StatPearls*, 2023.
- [41] M. Kciuk *et al.*, “Doxorubicin—An Agent with Multiple Mechanisms of Anticancer Activity”, 2023. doi: 10.3390/cells12040659.
- [42] I. Micallef y B. Baron, “Doxorubicin : An Overview of the Anti-Cancer and Chemoresistance Mechanisms”, *Annals of Clinical Toxicology*, vol. 3, núm. 2, 2020.
- [43] H. Su, J. Jia, Y. Mao, R. Zhu, y Z. Li, “A real-world analysis of FDA Adverse Event Reporting System (FAERS) events for liposomal and conventional doxorubicins”, *Sci. Rep.*, vol. 14, núm. 1, 2024, doi: 10.1038/s41598-024-55185-4.
- [44] R. Arrigoni, E. Jirillo, y C. Caiati, “Pathophysiology of Doxorubicin-Mediated Cardiotoxicity”, 2025. doi: 10.3390/toxics13040277.
- [45] C. Ajaykumar, “Overview on the Side Effects of Doxorubicin”, en *Advances in Precision Medicine Oncology*, 2021. doi: 10.5772/intechopen.94896.
- [46] J. Y. Choi, R. K. Thapa, C. S. Yong, y J. O. Kim, “Nanoparticle-based combination drug delivery systems for synergistic cancer treatment”, 2016. doi: 10.1007/s40005-016-0252-1.
- [47] S. Kumari, R. Nishad, Ritikesh, Mohd. Moinuddin, D. Verma, y A. R. Singh, “Nanoparticle – Based Drug Delivery for Stomach Cancer”, *International Journal of Research and Innovation in Applied Science*, vol. 10, núm. 11, 2025, doi: 10.51584/ijrias.2025.101100086.

- [48] M. A. Phelps y A. Sparreboom, "A snapshot of challenges and solutions in cancer drug development and therapy", 2014. doi: 10.1038/clpt.2014.15.
- [49] D. K. Chang, P. C. Li, R. M. Lu, W. N. Jane, y H. C. Wu, "Peptide-mediated liposomal doxorubicin enhances drug delivery efficiency and therapeutic efficacy in animal models", *PLoS One*, vol. 8, núm. 12, 2013, doi: 10.1371/journal.pone.0083239.
- [50] K. Dzobo, D. A. Senthebane, y C. Dandara, "The Tumor Microenvironment in Tumorigenesis and Therapy Resistance Revisited", 2023. doi: 10.3390/cancers15020376.
- [51] Q. Wang *et al.*, "Role of tumor microenvironment in cancer progression and therapeutic strategy", 2023. doi: 10.1002/cam4.5698.
- [52] B. Arneth, "Tumor microenvironment", 2020. doi: 10.3390/medicina56010015.
- [53] K. T. K. Reddy y A. S. Reddy, "Recent breakthroughs in drug delivery systems for targeted cancer therapy: an overview", *Cellular, Molecular and Biomedical Reports*, vol. 5, núm. 1, 2025, doi: 10.55705/cmbr.2025.456494.1246.
- [54] C. Roma-Rodrigues, L. R. Raposo, R. Valente, A. R. Fernandes, y P. V. Baptista, "Combined cancer therapeutics—Tackling the complexity of the tumor microenvironment", 2021. doi: 10.1002/wnan.1704.
- [55] V. Dhapte y V. Pokharkar, "Nanosystems for drug delivery: Design, engineering, and applications", en *Green Synthesis, Characterization and Applications of Nanoparticles*, 2018. doi: 10.1016/B978-0-08-102579-6.00013-7.
- [56] V. Andoh *et al.*, "The Advancing Role of Nanocomposites in Cancer Diagnosis and Treatment", 2024. doi: 10.2147/IJN.S471360.
- [57] *Nanoparticle Drug Delivery Systems for Cancer Treatment*. 2020. doi: 10.1201/9780429341250.
- [58] L. Sun *et al.*, "Smart nanoparticles for cancer therapy", 2023. doi: 10.1038/s41392-023-01642-x.
- [59] E. D. Namiot, A. V. Sokolov, V. N. Chubarev, V. V. Tarasov, y H. B. Schiöth, "Nanoparticles in Clinical Trials: Analysis of Clinical Trials, FDA Approvals and Use for COVID-19 Vaccines", 2023. doi: 10.3390/ijms24010787.
- [60] M. P. Nikolova, P. B. Joshi, y M. S. Chavali, "Updates on Biogenic Metallic and Metal Oxide Nanoparticles: Therapy, Drug Delivery and Cytotoxicity", 2023. doi: 10.3390/pharmaceutics15061650.

- [61] M. T. Yassin, F. O. Al-Otibi, S. A. Al-Sahli, M. S. El-Wetidy, y S. Mohamed, "Metal Oxide Nanoparticles as Efficient Nanocarriers for Targeted Cancer Therapy: Addressing Chemotherapy-Induced Disabilities", 2024. doi: 10.3390/cancers16244234.
- [62] R. Jan y G. e. S. Chaudhry, "Understanding apoptosis and apoptotic pathways targeted cancer therapeutics", 2019. doi: 10.15171/apb.2019.024.
- [63] D. Mundekkad y W. C. Cho, "Nanoparticles in Clinical Translation for Cancer Therapy", 2022. doi: 10.3390/ijms23031685.
- [64] T. A. Zughaibi *et al.*, "Evaluation of Anticancer Potential of Biogenic Copper Oxide Nanoparticles (CuO NPs) against Breast Cancer", *J. Nanomater.*, vol. 2022, 2022, doi: 10.1155/2022/5326355.
- [65] Z. Li *et al.*, "Zinc oxide nanoparticles induce human multiple myeloma cell death via reactive oxygen species and Cyt-C/Apaf-1/Caspase-9/Caspase-3 signaling pathway in vitro", *Biomedicine and Pharmacotherapy*, vol. 122, 2020, doi: 10.1016/j.biopha.2019.109712.
- [66] Z. Zou, H. Chang, H. Li, y S. Wang, "Induction of reactive oxygen species: an emerging approach for cancer therapy", 2017. doi: 10.1007/s10495-017-1424-9.
- [67] K. H. Tsui *et al.*, "The Cross-Communication of Cuproptosis and Regulated Cell Death in Human Pathophysiology", 2024. doi: 10.7150/ijbs.84733.
- [68] Y. Wang *et al.*, "Cuproptosis: A novel therapeutic target for overcoming cancer drug resistance", el 1 de enero de 2024, *Churchill Livingstone*. doi: 10.1016/j.drup.2023.101018.
- [69] X. Zhang *et al.*, "Cuproptosis, ferroptosis and PANoptosis in tumor immune microenvironment remodeling and immunotherapy: culprits or new hope", 2024. doi: 10.1186/s12943-024-02130-8.
- [70] D. Noh, H. Lee, S. Lee, I. C. Sun, y H. Y. Yoon, "Copper-Based Nanomedicines for Cuproptosis-Mediated Effective Cancer Treatment", 2024. doi: 10.34133/bmr.0094.
- [71] X. Tong *et al.*, "Targeting cell death pathways for cancer therapy: recent developments in necroptosis, pyroptosis, ferroptosis, and cuproptosis research", 2022. doi: 10.1186/s13045-022-01392-3.
- [72] B. Begines *et al.*, "Polymeric nanoparticles for drug delivery: Recent developments and future prospects", 2020. doi: 10.3390/nano10071403.
- [73] D. Chang, Y. Ma, X. Xu, J. Xie, y S. Ju, "Stimuli-Responsive Polymeric Nanoplatforms for Cancer Therapy", 2021. doi: 10.3389/fbioe.2021.707319.

- [74] M. A. Rahim *et al.*, “Recent advancements in stimuli responsive drug delivery platforms for active and passive cancer targeting”, 2021. doi: 10.3390/cancers13040670.
- [75] E. Boedtkjer y S. F. Pedersen, “The Acidic Tumor Microenvironment as a Driver of Cancer”, 2020. doi: 10.1146/annurev-physiol-021119-034627.
- [76] M. Hosonuma y K. Yoshimura, “Association between pH regulation of the tumor microenvironment and immunological state”, 2023. doi: 10.3389/fonc.2023.1175563.
- [77] R. A. Verkhovskii, A. N. Ivanov, E. V. Lengert, K. A. Tulyakova, N. Y. Shilyagina, y A. V. Ermakov, “Current Principles, Challenges, and New Metrics in pH-Responsive Drug Delivery Systems for Systemic Cancer Therapy”, 2023. doi: 10.3390/pharmaceutics15051566.
- [78] S. H. S. Boddu *et al.*, “Polyamide/poly(Amino acid) polymers for drug delivery”, 2021. doi: 10.3390/jfb12040058.
- [79] P. Chen *et al.*, “pH-Responsive Chimaeric Pepsomes Based on Asymmetric Poly(ethylene glycol)-b-Poly(L-leucine)-b-Poly(L-glutamic acid) Triblock Copolymer for Efficient Loading and Active Intracellular Delivery of Doxorubicin Hydrochloride”, *Biomacromolecules*, vol. 16, núm. 4, 2015, doi: 10.1021/acs.biomac.5b00113.
- [80] G. Kocak, C. Tuncer, y V. Bütün, “PH-Responsive polymers”, 2017. doi: 10.1039/c6py01872f.
- [81] A. I. Fahira, R. Abdulah, M. I. Barliana, V. A. Gatera, y R. Amalia, “Polyethyleneimine (PEI) as a Polymer-Based Co-Delivery System for Breast Cancer Therapy”, 2022. doi: 10.2147/BCTT.S350403.
- [82] S. Bhattacharya, M. M. Anjum, y K. K. Patel, “Gemcitabine cationic polymeric nanoparticles against ovarian cancer: formulation, characterization, and targeted drug delivery”, *Drug Deliv.*, vol. 29, núm. 1, 2022, doi: 10.1080/10717544.2022.2058645.
- [83] Y. Mu, L. Gong, T. Peng, J. Yao, y Z. Lin, “Advances in pH-responsive drug delivery systems”, *OpenNano*, vol. 5, 2021, doi: 10.1016/j.onano.2021.100031.
- [84] J. Singh y P. Nayak, “pH-responsive polymers for drug delivery: Trends and opportunities”, 2023. doi: 10.1002/pol.20230403.
- [85] P. Kesharwani, A. Gothwal, A. K. Iyer, K. Jain, M. K. Chourasia, y U. Gupta, “Dendrimer nanohybrid carrier systems: an expanding horizon for targeted drug and gene delivery”, 2018. doi: 10.1016/j.drudis.2017.06.009.

- [86] Z. Li, E. Ye, David, R. Lakshminarayanan, y X. J. Loh, “Recent Advances of Using Hybrid Nanocarriers in Remotely Controlled Therapeutic Delivery”, 2016. doi: 10.1002/sml.201601129.
- [87] S. Gressler, C. Hipfinger, F. Part, A. Pavlicek, C. Zafiu, y B. Giese, “A systematic review of nanocarriers used in medicine and beyond — definition and categorization framework”, 2025. doi: 10.1186/s12951-025-03113-7.
- [88] M. Chamundeeswari, J. Jeslin, y M. L. Verma, “Nanocarriers for drug delivery applications”, 2019. doi: 10.1007/s10311-018-00841-1.
- [89] M. T. Manzari, Y. Shamay, H. Kiguchi, N. Rosen, M. Scaltriti, y D. A. Heller, “Targeted drug delivery strategies for precision medicines”, 2021. doi: 10.1038/s41578-020-00269-6.
- [90] T. C. Ezike *et al.*, “Advances in drug delivery systems, challenges and future directions”, 2023. doi: 10.1016/j.heliyon.2023.e17488.
- [91] E. Rama, J. N. May, A. Rix, T. Lammers, y F. Kiessling, “Image-guided strategies to improve drug delivery to tumors beyond using the enhanced permeability and retention (EPR) effect”, 2025. doi: 10.1016/j.bbrc.2025.152346.
- [92] J. I. Garcia-Peiro, J. Bonet-Aleta, y J. L. Hueso, “Copper-based nanoplatforms and their role in cancer therapy”, 2025. doi: 10.1016/j.ccr.2025.216542.
- [93] J. O. You, D. Almeda, G. J. C. Ye, y D. T. Augustine, “Bioresponsive matrices in drug delivery”, 2010. doi: 10.1186/1754-1611-4-15.
- [94] J. Neiva, Z. Benzarti, S. Carvalho, y S. Devesa, “Green Synthesis of CuO Nanoparticles—Structural, Morphological, and Dielectric Characterization”, *Materials*, vol. 17, núm. 23, 2024, doi: 10.3390/ma17235709.
- [95] S. Anandan y S. Yang, “Emergent methods to synthesize and characterize semiconductor CuO nanoparticles with various morphologies - An overview”, en *Journal of Experimental Nanoscience*, 2007. doi: 10.1080/17458080601094421.
- [96] A. M. Elsayed, N. M. Sherif, N. S. Hassan, F. Althobaiti, N. A. N. Hanafy, y H. A. Sahyon, “Novel quercetin encapsulated chitosan functionalized copper oxide nanoparticles as anti-breast cancer agent via regulating p53 in rat model”, *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 185, pp. 134–152, ago. 2021, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2021.06.085.
- [97] D. Laha *et al.*, “Interplay between autophagy and apoptosis mediated by copper oxide nanoparticles in human breast cancer cells MCF7”, *Biochim.*

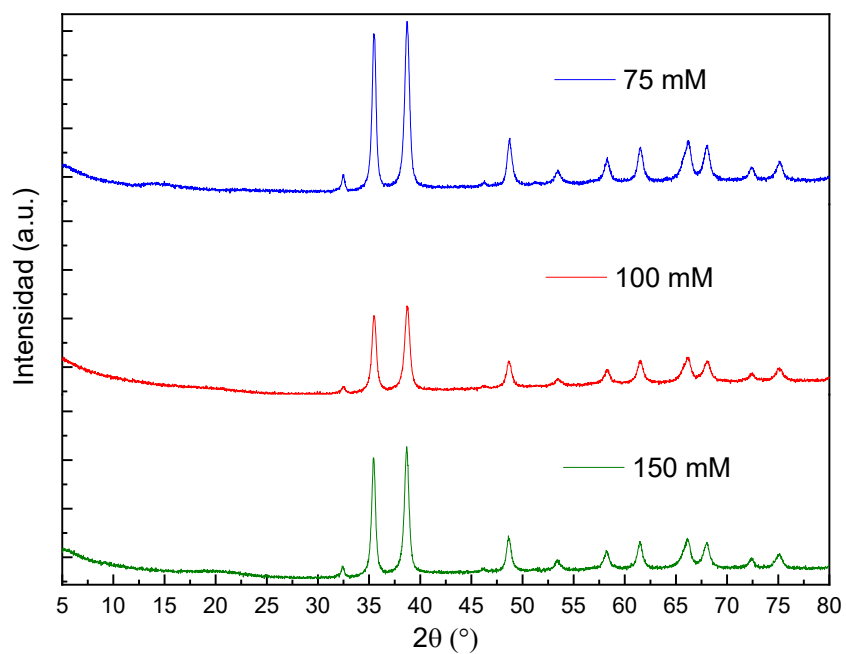
- Biophys. Acta Gen. Subj.*, vol. 1840, núm. 1, pp. 1–9, 2014, doi: 10.1016/j.bbagen.2013.08.011.
- [98] X. Q. Chen, Y. Y. Liu, K. H. Qi, X. Zhou, y J. H. Xin, “A Direct Route to Active Silica Nanoparticles”, *Solid State Phenomena*, vol. 121–123, pp. 65–68, mar. 2007, doi: 10.4028/www.scientific.net/ssp.121-123.65.
- [99] B. S. Hadavand y H. Hosseini, “Investigation of viscoelastic properties and thermal behavior of photocurable epoxy acrylate nanocomposites”, *Science and Engineering of Composite Materials*, vol. 24, núm. 5, 2017, doi: 10.1515/secm-2015-0161.
- [100] H. C. Huang, B. C. Huang, H. P. Hsu, y C. W. Lan, “Synthesis of Silicon Oxycarbide Beads from Alkoxysilane as Anode Materials for Lithium-Ion Batteries”, *ACS Omega*, vol. 8, núm. 4, 2023, doi: 10.1021/acsomega.2c07242.
- [101] J. T. Lee, M. Kang, y J. Y. Bae, “The Facile Synthesis and Application of Mesoporous Silica Nanoparticles with a Vinyl Functional Group for Plastic Recycling”, *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 25, núm. 4, 2024, doi: 10.3390/ijms25042295.
- [102] S. Zhu y A. Hamielec, “4.32 - Polymerization Kinetic Modeling and Macromolecular Reaction Engineering”, en *Polymer Science: a Comprehensive Reference: Volume 1-10*, vol. 1–10, 2012. doi: 10.1016/B978-0-444-53349-4.00127-8.
- [103] V. P. Panov, L. A. Kazarin, V. I. Dubrovin, V. V Gusev, y Y. E. Kirsh, “INFRARED SPECTRA OF ATACTIC POLY-4-VINYLPYRIDINE”.
- [104] S. Bayari y Yurdakul, “Fourier transform infrared and Raman spectra of 4-vinylpyridine and its transition metal(II) tetracyanonickelate complexes”, *Spectroscopy Letters*, vol. 33, núm. 4, 2000, doi: 10.1080/00387010009350132.
- [105] F. Espinola-Portilla *et al.*, “Superparamagnetic iron oxide nanoparticles functionalized with a binary alkoxysilane array and poly(4-vinylpyridine) for magnetic targeting and pH-responsive release of doxorubicin”, *New Journal of Chemistry*, vol. 45, núm. 7, pp. 3600–3609, feb. 2021, doi: 10.1039/d0nj05227b.
- [106] Y. Li, H. Lu, Z. Y. Zhang, H. Liu, y Z. Y. Sun, “Network formation and mechanical stretching of nanocomposite fabricated by crosslinking reaction of polymer-grafted nanoparticles”, *Compos. Sci. Technol.*, vol. 227, 2022, doi: 10.1016/j.compscitech.2022.109605.
- [107] S. Bednarz, A. Wesółowska-Piętak, R. Konefał, y T. Świergosz, “Persulfate initiated free-radical polymerization of itaconic acid: Kinetics, end-groups and

- side products”, *Eur. Polym. J.*, vol. 106, 2018, doi: 10.1016/j.eurpolymj.2018.07.010.
- [108] B. Li, X. Lu, Y. Ma, y Z. Chen, “Thermo- and pH-responsive behaviors of aqueous poly(acrylic acid)/poly(4-vinylpyridine) complex material characterized by ATR-FTIR and UV-Vis Spectroscopy”, *Eur. Polym. J.*, vol. 60, 2014, doi: 10.1016/j.eurpolymj.2014.09.017.
- [109] R. Singhal, R. S. Tomar, y A. K. Nagpal, “Effect of cross-linker and initiator concentration on the swelling behaviour and network parameters of superabsorbent hydrogels based on acrylamide and acrylic acid”, *International Journal of Plastics Technology*, vol. 13, núm. 1, 2009, doi: 10.1007/s12588-009-0004-4.
- [110] I. Poplewska, B. Strachota, A. Strachota, G. Poplewski, y D. Antos, “Thermo- and pH-Responsible Gels for Efficient Protein Adsorption and Desorption”, *Molecules*, vol. 29, núm. 20, 2024, doi: 10.3390/molecules29204858.
- [111] A. Gooranorimi, S. M. Mousavifard, M. Mohseni, H. Yahyaei, y H. Makki, “Effective Cross-Link Density as a Metric for Structure–Property Relationships in Complex Polymer Networks: Insights from Acrylic Melamine Systems”, *ACS Appl. Polym. Mater.*, vol. 7, núm. 14, 2025, doi: 10.1021/acsapm.5c01155.
- [112] P. S. R. Naidu, M. Norret, S. A. Dunlop, M. Fitzgerald, T. D. Clemons, y K. S. Iyer, “Novel Hydrophilic Copolymer-Based Nanoparticle Enhances the Therapeutic Efficiency of Doxorubicin in Cultured MCF-7 Cells”, *ACS Omega*, vol. 4, núm. 17, 2019, doi: 10.1021/acsomega.8b02894.
- [113] S. Sayin *et al.*, “Electrospun Nanofibers With pH-Responsive Coatings for Control of Release Kinetics”, *Front. Bioeng. Biotechnol.*, vol. 7, 2019, doi: 10.3389/fbioe.2019.00309.
- [114] D. Kennepohl, “ATHABASCA UNIVERSITY CHEMISTRY 360 ORGANIC CHEMISTRY II”, 2022. [En línea]. Disponible en: <https://LibreTexts.org>
- [115] V. R. Khabibullin, M. R. Chetyrkina, S. I. Obydennyy, S. V. Maksimov, G. V. Stepanov, y S. N. Shtykov, “Study on Doxorubicin Loading on Differently Functionalized Iron Oxide Nanoparticles: Implications for Controlled Drug-Delivery Application”, *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 24, núm. 5, 2023, doi: 10.3390/ijms24054480.
- [116] H. Kolahi Azar, L. Sabouri, N. Beheshtizadeh, y R. Maleki, “pH-stimuli-responsive doxorubicin release and stability in chitosan–Eudragit nanocarriers”, *Sci. Rep.*, vol. 15, núm. 1, 2025, doi: 10.1038/s41598-025-30007-3.

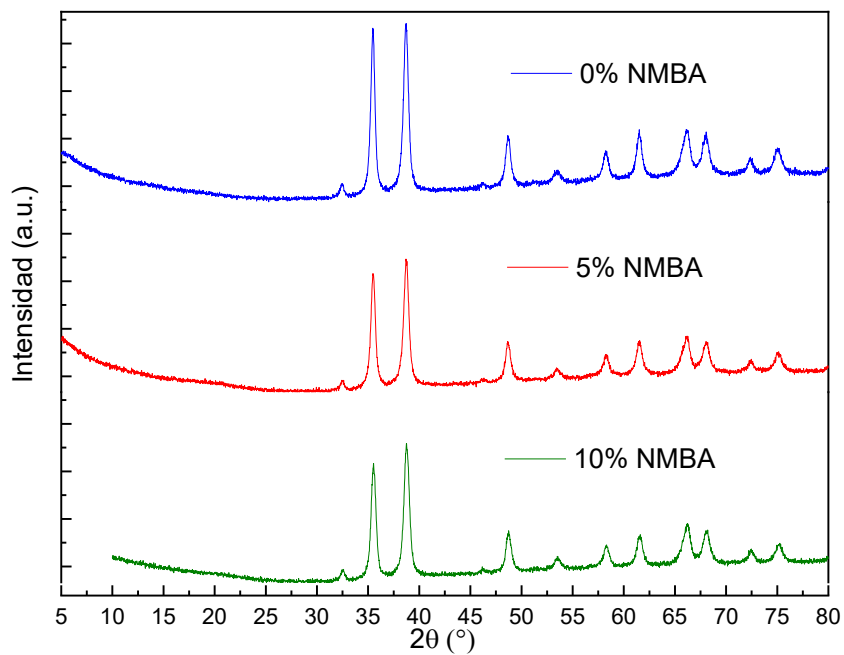
- [117] Y. Liu *et al.*, “Design of pH-Responsive Nanomaterials Based on the Tumor Microenvironment”, 2025. doi: 10.2147/IJN.S504629.
- [118] G. Bort, F. Lux, S. Dufort, Y. Crémillieux, C. Verry, y O. Tillement, “EPR-mediated tumor targeting using ultrasmall-hybrid nanoparticles: From animal to human with theranostic AGuIX nanoparticles”, 2020. doi: 10.7150/thno.37543.
- [119] H. Zuo, Z. Gu, H. Cooper, y Z. P. Xu, “Crosslinking to enhance colloidal stability and redispersity of layered double hydroxide nanoparticles”, *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 459, 2015, doi: 10.1016/j.jcis.2015.07.063.
- [120] R. Atif, T. Salah Eldeen, L. Ahmed, I. Yahya, A. Omara, y M. Eltayeb, “Study the Using of Nanoparticles as Drug Delivery System Based on Mathematical Models for Controlled Release”, 2019. [En línea]. Disponible en: www.ijltemas.in
- [121] J. M. Unagolla y A. C. Jayasuriya, “Drug transport mechanisms and in vitro release kinetics of vancomycin encapsulated chitosan-alginate polyelectrolyte microparticles as a controlled drug delivery system”, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 114, pp. 199–209, mar. 2018, doi: 10.1016/j.ejps.2017.12.012.
- [122] M. M. C. Borges, S. Y. B. de Carvalho, K. B. Borges, y L. G. de L. Guimarães, “Controlled Release of Perillyl Alcohol via pH-Responsive Chitosan-Polypyrrole Nanocarriers”, *ACS Omega*, vol. 10, núm. 26, pp. 28466–28477, jul. 2025, doi: 10.1021/acsomega.5c04817.
- [123] M. Sánchez-Díez *et al.*, “Assessment of Cell Viability in Drug Therapy: IC50 and Other New Time-Independent Indices for Evaluating Chemotherapy Efficacy”, *Pharmaceutics*, vol. 17, núm. 2, 2025, doi: 10.3390/pharmaceutics17020247.
- [124] P. G. González-Larraz, T. M. López-Goerne, F. J. Padilla-Godínez, M. A. González-López, A. Hamdan-Partida, y E. Gómez, “IC50 Evaluation of Platinum Nanocatalysts for Cancer Treatment in Fibroblast, HeLa, and DU-145 Cell Lines”, *ACS Omega*, vol. 5, núm. 39, 2020, doi: 10.1021/acsomega.0c03759.
- [125] C. Xia, Z. Luo, Z. Feng, Q. Zhang, y C. Xia, “Mechanism and application of copper-based nanomedicines in activating tumor immunity through oxidative stress modulation”, 2025. doi: 10.3389/fphar.2025.1646890.
- [126] M. Lei, M. Ma, X. Pang, F. Tan, y N. Li, “A dual pH/thermal responsive nanocarrier for combined chemo-thermotherapy based on a copper-doxorubicin complex and gold nanorods”, *Nanoscale*, vol. 7, núm. 38, 2015, doi: 10.1039/c5nr04353k.

- [127] J. Bariwal, H. Ma, G. A. Altenberg, y H. Liang, “Nanodiscs: a versatile nanocarrier platform for cancer diagnosis and treatment”, 2022. doi: 10.1039/d1cs01074c.

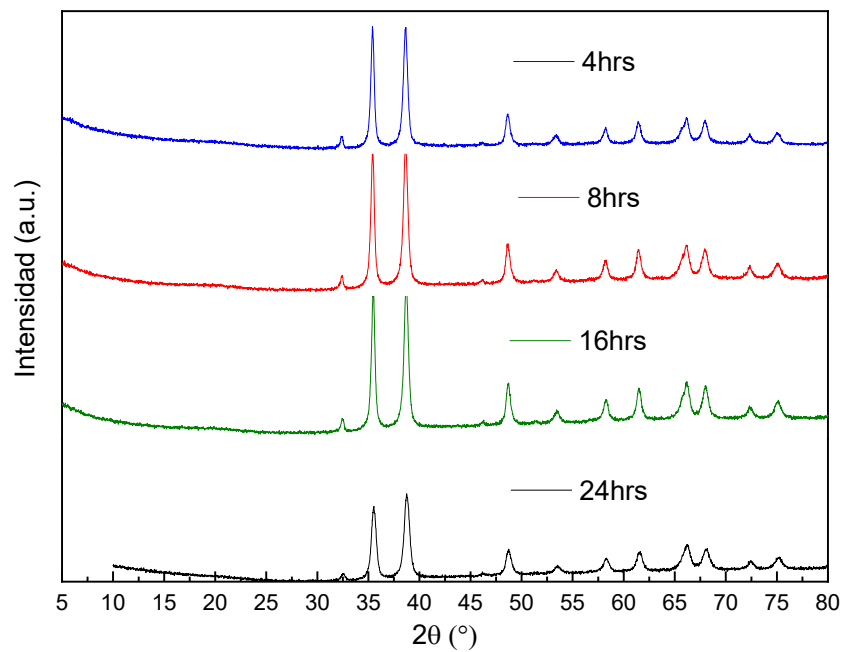
Capítulo X-Anexos



Anexo 1. Patrón de difracción de rayos X (DRX) de NPsCuO@VS-g-P4VP a diferentes concentraciones de monómero.



Anexo 2. Patrón de difracción de rayos X (DRX) de NPsCuO@VS-g-P4VP a diferentes concentraciones de entrecruzante.



Anexo 3. Patrón de difracción de rayos X (DRX) de NPsCuO@VS-g-P4VP a diferentes concentraciones de entrecruzante.