



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO



Facultad de Químico Farmacobiología

**PROGRAMA INSTITUCIONAL DE MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

Efecto antiedad y caracterización química de un extracto acuoso de cortezas de

*Quercus scytophylla*

Proyecto de tesis que presenta:

**Ing. Yosniel Peña Hernández**

Como requisito para obtener el grado de:

Maestro en Ciencias Biológicas

**DIRECTOR DE TESIS: D.C Martha Estrella García Pérez**

**CO- DIRECTOR: D.C José Juan Virgen Ortíz**

Morelia, Michoacán Mayo, 2025



## AGRADECIMIENTOS

*En la obscuridad no hay luz ni reflejos, en ella solo la mente es luz...*

Llegar al final de esta etapa representa no solo la culminación de un proceso académico, sino también la convergencia de esfuerzos, sueños y voluntades que me acompañaron a lo largo de este camino. Esta tesis no es solo el resultado de un trabajo individual, sino el reflejo del apoyo generoso y constante de muchas personas a quienes deseo agradecer profundamente.

Agradezco en primer lugar a mi directora de tesis, la Dra. Martha Estrella García Pérez, por su guía firme, su paciencia incansable y por exigirme siempre dar lo mejor de mí. Su pasión por la ciencia y su compromiso con la formación de estudiantes son incalculables. Extiendo mi gratitud al Dr. José Juan Virgen Ortiz, por su apoyo académico y sus valiosas sugerencias, que fortalecieron el rigor y la dirección de este proyecto.

Agradezco también al **Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT)** por el respaldo financiero otorgado a través de la beca de posgrado, sin la cual la realización de estos estudios no habría sido posible. Su compromiso con la formación de científicos y científicas en México es un motor fundamental para el desarrollo del conocimiento.

A mis profesores, al personal de laboratorio, técnicos, y colegas investigadores que me brindaron no solo conocimientos, sino también tiempo, materiales y, muchas veces, palabras de ánimo en los momentos más complejos. Gracias por su disposición y espíritu colaborativo.

A la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, por darme la oportunidad de crecer académica y personalmente en un entorno que valora el conocimiento y el compromiso social.

A mi familia, pilar inquebrantable de amor y confianza. Gracias por su fe en mí incluso en mis silencios, por las largas esperas, los sacrificios invisibles y el calor que solo el hogar puede dar. Este logro es tan suyo como mío.

Y finalmente, a la vida, por todas sus lecciones: las dulces y las difíciles. Porque todo lo aprendido, incluso más allá de los libros, también forma parte de esta tesis.

## TABLA DE CONTENIDO

<b>AGRADECIMIENTOS</b>	<b>3</b>
<b>INDICE DE TABLAS</b>	<b>4</b>
<b>INDICE DE FIGURAS</b>	<b>5</b>
<b>RESUMEN</b>	<b>7</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>8</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>9</b>
<b>1. MARCO TEÓRICO.</b>	<b>10</b>
1.1 Bases científicas del envejecimiento cutáneo.	10
1.2 Implicaciones fisiológicas y patológicas del deterioro de la matriz extracelular dérmica.	11
1.3 Factores intrínsecos y extrínsecos del envejecimiento cutáneo.	11
1.4 Especies reactivas de oxígeno y su papel en la degradación de la matriz extracelular dérmica.	12
1.5 La elastina, tirosina y el envejecimiento cutáneo.	13
1.6 El papel de las enzimas elastasa y tirosinasa durante el envejecimiento.	15
1.7 Los antioxidantes naturales en la dermocosmética.	17
1.8 Características estructurales de los polifenoles y su actividad antioxidante.	18
1.9 Fuentes naturales de polifenoles.	20
1.10 Distribución de la especie <i>Quercus scytophylla</i> en México y Michoacán.	22
1.11 Estudios previos realizados en <i>Quercus scytophylla</i> .	23
<b>2. JUSTIFICACIÓN</b>	<b>25</b>
<b>3. HIPÓTESIS</b>	<b>25</b>
<b>4. OBJETIVO GENERAL</b>	<b>25</b>
<b>5. OBJETIVOS específicos</b>	<b>25</b>
<b>6. METODOLOGÍA</b>	<b>26</b>
6.1 Obtención del QSAE	26
6.1.1 Colecta de las cortezas	26
6.1.2 Determinación del porcentaje en humedad de la corteza de <i>Q. scytophylla</i>	26
6.1.3 Obtención del QSAE	26
6.2 Caracterización química del QSAE	27
6.2.1 Contenido de fenoles totales	27

6.2.2 Determinación del contenido de ácidos hidroxicinámicos totales _____	27
6.2.3 Determinación del contenido en proantocianidinas totales _____	28
6.2.4 Determinación del contenido de flavonoides totales _____	28
6.3 Identificación de compuestos mayoritarios en el QSAE por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) _____	28
6.4 Evaluación de la capacidad del QSAE para captar al radical hidroxilo _____	29
6.5 Determinación la actividad inhibitoria in vitro del QSAE sobre enzimas elastasa y tirosinasa. _____	30
6.5.1 Determinación de la capacidad del extracto QSAE para inhibir la actividad de la enzima Elastasa. _	30
6.5.2 Determinación de la capacidad del QSAE para inhibir la actividad de la enzima Tirosinasa. _____	31
6.6 Evaluación de la capacidad inhibitoria de los compuestos mayoritarios sobre las enzimas tirosinasa y elastasa. _____	31
6.6.1 Capacidad anti-elastasa de los compuestos mayoritarios. _____	31
6.6.2 Capacidad anti-tirosinasa de los compuestos mayoritarios. _____	32
6.7 Evaluación de las interacciones de las mezclas binarias sobre la actividad enzimática <i>in silico</i> . _____	32
<b>7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO _____</b>	<b>33</b>
<b>8. RESULTADOS _____</b>	<b>35</b>
8.1 Colecta e identificación botánica de <i>Quercus scytophylla</i> _____	35
8.2 Caracterización química del QSAE _____	36
8.2.1 Contenido de fenoles totales, flavonoides. ácidos hidroxicinámicos y proantocianidinas. _____	36
7.3.2 Compuestos identificados mediante GC-MS en el QSAE. _____	37
7.4 Actividad antioxidante. _____	42
7.4.1 Determinación de la capacidad antioxidante sobre el radical hidroxilo. _____	42
7.5 Capacidad del QSAE para inhibir la actividad de las enzimas tirosinasa y elastasa. _____	44
7.5.1 Capacidad del QSAE para inhibir la actividad de la tirosinasa. _____	44
7.5.2 Capacidad del QSAE para inhibir la actividad de la enzima elastasa. _____	45
7.6 Evaluación anti-enzimática de los compuestos mayoritarios del QSAE. _____	47
7.6.2 Determinación de la capacidad anti-elastasa. _____	47
7.6.2 Determinación de la capacidad anti-tirosinasa _____	49
7.7 Análisis <i>in silico</i> de las interacciones de los compuestos mayoritarios sobre la actividad de las enzimas tirosinasa y elastasa. _____	50
<b>8. DISCUSIÓN _____</b>	<b>52</b>
<b>9. CONCLUSIONES _____</b>	<b>62</b>

**REFERENCIAS** \_\_\_\_\_ **63**

**ANEXOS** \_\_\_\_\_ **80**

A) Contenido de Fenoles totales e inhibición de la enzima tirosinasa. Fuente (F. J. Hashim *et al.*, 2021) \_ 80

B) Poligonogramas. Interacción de los compuestos en función del porcentaje de inhibición de las enzimas elastasa y tirosinasa. \_\_\_\_\_ 81

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> <i>Especies reactivas de oxígeno. Radicales libres y no libres. Fuente: (Asadi-Samani et al., 2019). Modificado por: (Flores, 2021)</i> .....	12
<b>Tabla 2.</b> <i>Contenido de fenoles, flavonoides, ácidos hidroxicinámicos y proantocianidinas totales del QSAE y el Oligopin®</i> .....	37
<b>Tabla 3.</b> <i>Listado de compuestos identificados en el QSAE mediante GC-MS</i> .....	38
<b>Tabla 4.</b> <i>Composición por categoría de los compuestos identificados y el porcentaje que representan en la muestra</i> .....	41

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Degradación de componentes de la matriz extracelular dérmica MEC.....	15
<b>Figura 2.</b> Mecanismo de acción de la tirosinasa. Fuente: (Montoliu & Yturralde, 2018) .....	17
<b>Figura 3.</b> Estructura básica de un fenol. Fuente: Wikipedia .....	19
<b>Figura 4.</b> Estructura química de las principales familias de polifenoles. Fuente: (Lizárraga-Velázquez et al., 2018) .....	19
<b>Figura 5.</b> Mapa de distribución mundial de los encinos. Fuente: (Denk et al., 2017).....	21
<b>Figura 6.</b> Mapas de distribución de los bosques de encino en México. 5A) encino (café oscuro); 5A) encino-pino (Café claro); 5B) pino-encino (verde claro) y 5B) pino (verde oscuro). Fuente: (Rodríguez-Trejo & García Pascual, 2021).....	21
<b>Figura 7.</b> Principales fenoles identificados en especies del género Quercus. Fuente: (Argueta-Solís et al., 2018) 22	
<b>Figura 8.</b> Distribución geográfica del Quercus scytophylla en México. Fuente: (CONABIO, s/f) .....	23
<b>Figura 9.</b> Geolocalización del sitio de colecta de la corteza del Quercus scytophylla mapa digital de México-INEGI .....	35
<b>Figura 10.</b> Características botánicas de Quercus scytophylla. Fuente: (Calzada 21882, IZTA).....	36
<b>Figura 11.</b> Cromatograma del QSAE obtenido por GC-MS .....	38
<b>Figura 12.</b> Área que representa cada familia de compuestos con respecto al área total expresada en (%). .....	42
<b>Figura 13.</b> Capacidad del QSAE y el Oligopin® para captar al radical hidroxilo. Los resultados se expresan como la media $\pm$ la desviación estándar. (***) , diferencial estadística altamente significativa.....	43
<b>Figura 14.</b> Actividad anti-tirosinasa del ácido kójico, Oligopin® y QSAE. Valores de las IC <sub>50</sub> corresponden al promedio $\pm$ la desviación estándar.....	44
<b>Figura 15.</b> Comparación de las IC <sub>50</sub> del ácido kójico, Oligopin® y del QSAE mediante ANOVA de una vía. Las diferencias entre los grupos se determinaron con la prueba Post hoc de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Letras diferentes indican diferencias significativas entre las medias. ....	45
<b>Figura 16.</b> Actividad anti-elastasa de la (EGCG), Oligopin® y QSAE. Valores de las IC <sub>50</sub> corresponden al promedio $\pm$ la desviación estándar.....	46
<b>Figura 17.</b> Comparación de las IC <sub>50</sub> (EGCG), Oligopin® y QSAE mediante ANOVA de una vía. Las diferencias entre los grupos se determinaron con la prueba Post hoc de Tukey $p \leq 0,05$ . Letras diferentes indican diferencias significativas entre las medias.....	46
<b>Figura 18.</b> Porcentaje de inhibición de la enzima elastasa correspondiente a las concentraciones de los compuestos e IC <sub>50</sub> $\pm$ desviación estándar.....	48
<b>Figura 19.</b> Comparación de las concentraciones inhibitorias medias (IC <sub>50</sub> ) de los compuestos mayoritarios del QSAE para inhibir la enzima elastasa. El gráfico representa el promedio $\pm$ desviación estándar. Letras distintas sobre las columnas indican diferencias estadísticamente significativas (**** $p < 0.0001$ ) .....	48

- Figura 20.** Porcentaje de inhibición de la enzima tirosinasa correspondiente a las concentraciones de los compuestos e  $IC_{50} \pm$  desviación estándar..... 49
- Figura 21.** Comparación de las concentraciones inhibitorias medias de los compuestos mayoritarios del QSAE para inhibir la enzima tirosinasa. El gráfico representa el promedio  $\pm$  desviación estándar. Letras distintas sobre las columnas indican diferencias estadísticamente significativas (\*\*  $p < 0.01$ ) ..... 50
- Figura 22.** Fracción afectada (Fa) vs. Índice de Combinación (CI) de la interacción de 2,4- di-terc butilfenol (2,4-DTBP),  $\alpha$ -tocoferol y myo-inositol en la inhibición de la actividad enzimática de: A) Tirosinasa y B) Elastasa. .... 51

## RESUMEN

México constituye uno de los países con mayor diversidad de especies de encinos (*Quercus* spp.). Además de su importancia forestal, las cortezas de encinos mexicanos se han utilizado desde tiempos ancestrales por la medicina tradicional como tratamientos dermatológicos. Sin embargo, aún no se conoce su impacto sobre alteraciones cutáneas como el envejecimiento cutáneo, ni se han caracterizado sus metabolitos mayoritarios. El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de un extracto acuoso de cortezas de *Quercus scytophylla* (QSAE), un encino mexicano, para atenuar el envejecimiento. Para ello se determinó su efecto antioxidante sobre la captación del radical hidroxilo y su potencial inhibitorio sobre las enzimas elastasa y tirosinasa, involucradas en el envejecimiento prematuro, utilizando métodos espectrofotométricos. Además, se determinó el contenido de fenoles totales, flavonoides, proantocianidinas y ácidos hidroxicinámicos en el QSAE. Los metabolitos mayoritarios presentes en el extracto fueron identificados por GC-MS. La actividad inhibitoria sobre la actividad de la tirosinasa y elastasa de los metabolitos 2,4 di-terc butilfenol (2,4DTBP),  $\alpha$ -tocoferol y myo-inositol, presentes en el QSAE, se analizó espectrofotométricamente, mientras que la acción antagónica, sinérgica o aditiva de sus mezclas binarias fue examinada *in silico* mediante la determinación del índice de combinación (IC). El QSAE posee una alta concentración de ácidos hidroxicinámicos (195.1 mg EACI/g), excelente capacidad para captar al radical hidroxilo ( $EC_{25}=51.52\mu\text{g/ml}$ ) y una actividad inhibitoria sobre la elastasa superior al extracto cosmeceútico comercial Oligopin<sup>®</sup> ( $IC_{50}=19.78\mu\text{g/ml}$  vs.  $132.10\mu\text{g/ml}$ ). Los compuestos mayoritarios  $\alpha$ -tocoferol ( $IC_{50}=58.62\mu\text{g/ml}$ ) y 2,4DTBP ( $IC_{50}=38.45\mu\text{g/ml}$ ), contribuyeron significativamente a la inhibición de la tirosinasa y elastasa respectivamente. Ambas moléculas, al mezclarse, a bajas concentraciones presentan un efecto sinérgico sobre la inhibición de la tirosinasa, mostrando un  $IC<1$ . Estos resultados sugieren un potencial del QSAE y de sus metabolitos mayoritarios 2,4DTBP y  $\alpha$ -tocoferol como ingredientes activos en formulaciones cosmeceúticas destinadas a atenuar el envejecimiento cutáneo.

---

**Palabras clave:** piel, *Quercus scytophylla*, envejecimiento, enzimas, extracto

## ABSTRACT

Mexico is one of the countries with the greatest diversity of oak species (*Quercus* spp.). Beyond its significance in forestry, Mexican oaks' bark has been used in traditional medicine for centuries, particularly for dermatological applications. However, its effects on skin conditions, including aging, remain largely unexplored, and its primary metabolites have yet to be characterized. This investigation aimed to assess the impact of an aqueous extract from the bark of *Quercus scytophylla* (QSAE), a Mexican oak, on mitigating signs of aging. To achieve this, its antioxidant properties in scavenging hydroxyl radicals and its inhibitory effects on elastase and tyrosinase enzymes, which are associated with premature aging, were assessed through spectrophotometric techniques. Additionally, the total phenolic content, flavonoids, proanthocyanidins, and hydroxycinnamic acids present in QSAE were determined. The primary metabolites in the extract were identified through GC-MS analysis. The inhibitory effects of the metabolites 2,4-di-tert-butylphenol (2,4DTBP),  $\alpha$ -tocopherol, and myo-inositol, found in QSAE, on tyrosinase and elastase activities were assessed spectrophotometrically. At the same time, their antagonistic, synergistic or additive action of their binary mixtures was examined *in silico* by determining the combination index (CI). QSAE demonstrated a high concentration of hydroxycinnamic acids (195.1 mg EACL/g), a remarkable capacity for hydroxyl radical scavenging ( $EC_{25}=51.52 \mu\text{g/ml}$ ), and an elastase inhibitory activity that surpassed those of the commercial cosmeceutical extract Oligopin<sup>®</sup> ( $IC_{50}=19.78 \mu\text{g/ml}$  vs.  $132.10 \mu\text{g/ml}$ ). The compounds,  $\alpha$ -tocopherol ( $IC_{50}=58.62 \mu\text{g/ml}$ ) and 2,4DTBP ( $IC_{50}=38.45 \mu\text{g/ml}$ ) played significant roles in inhibiting tyrosinase and elastase, respectively. These compounds synergized tyrosinase inhibition at lower concentrations with an  $IC<1$ . These findings suggest the potential of QSAE and its major metabolites 2,4DTBP and  $\alpha$ -tocopherol as a valuable ingredient in anti-aging cosmeceutical products.

---

**Keywords:** skin, *Quercus scytophylla*, aging, enzymes, extract.

## INTRODUCCIÓN

El envejecimiento cutáneo es un proceso condicionado por factores intrínsecos (genéticos, metabólicos) y extrínsecos (radiación UV, contaminación, tabaquismo, mala alimentación). Con el pasar del tiempo estos elementos afectan la estructura y funcionalidad de la piel, especialmente, mediante la disminución progresiva de componentes esenciales como el colágeno y la elastina. Este deterioro está mediado por la incidencia de las especies reactivas de oxígeno, impactando negativamente el funcionamiento de enzimas claves, como la elastasa y la tirosinasa. El aumento de la actividad de la elastasa reduce la elasticidad y firmeza de la piel, mientras que el incremento de la tirosinasa se relaciona con la hiperpigmentación, contribuyendo al envejecimiento cutáneo prematuro.

La investigación sobre productos naturales para frenar el envejecimiento ha enfocado su atención en extractos de plantas ricos en moléculas activas, como los polifenoles. Los polifenoles son de interés por sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y antienzimáticas. Estos compuestos son abundantes en la naturaleza, pudiéndose encontrar en árboles, frutos, semillas, y cortezas de árboles. Su merecida fama no se debe solo a sus propiedades, sino también, a sus múltiples mecanismos de acción, así como a su fácil y económica obtención. Estudios previos han documentado que los extractos de cortezas de encinos (*Quercus* spp.) contienen polifenoles (1,2), cuyos efectos antioxidantes y antiinflamatorios podrían ser útiles para el desarrollo de nuevos productos cosmeceúticos destinados a atenuar los signos del envejecimiento prematuro. De hecho, extractos de cortezas de encino se han utilizado ampliamente por la Medicina Tradicional para tratar afecciones dermatológicas (3–5)

Los encinos están ampliamente distribuidos en México, país considerado como el segundo centro mundial de especies pertenecientes a este género (6). Previamente se ha revelado que el extracto de cortezas de *Quercus scytophylla*, una especie endémica de México, posee una composición fenólica abundante con una notable capacidad antioxidante (7). Esto resulta interesante, ya que la corteza es un recurso subutilizado que podría aprovecharse para generar productos dermatológicos orientados a atenuar el envejecimiento. Sin embargo, aún no se ha caracterizado químicamente ni se conoce su potencial para inhibir enzimas involucradas en el envejecimiento prematuro de la piel. La falta de conocimiento sobre la composición química

de extractos de esta especie ha dificultado la identificación de metabolitos bioactivos con efectos anti-edad, necesarios para estandarizar y comercializar los extractos naturales.

## **1. MARCO TEÓRICO.**

### **1.1 Bases científicas del envejecimiento cutáneo.**

El envejecimiento cutáneo forma parte del "mosaico de envejecimiento humano natural", el cual sigue diferentes trayectorias en órganos, tejidos y células. Si bien los órganos internos pueden enmascarar los signos que anuncian la llegada de la vejez, la piel, el órgano más extenso del organismo y nuestra primera barrera protectora externa expone las primeras huellas obvias del paso del tiempo sobre nuestro cuerpo.

La piel está constituida de 3 capas principales denominadas epidermis, dermis e hipodermis. Mientras que la epidermis es la capa más externa, cuya función principal es la de barrera, la dermis ofrece el soporte, la flexibilidad y consistencia a la epidermis y experimenta cambios importantes durante el envejecimiento.

Este proceso está condicionado por una multiplicidad de factores que pudieran causar la acumulación de cambios perjudiciales en células, tejidos, la estructura y función de la piel (8). La literatura científica engloba a los factores que inciden sobre el envejecimiento cutáneo en dos grandes grupos: factores intrínsecos (genéticos y fisiológicos) y extrínsecos (ambientales y conductuales). La acción de estos factores conduce a la disminución de las funciones biológicas de la piel y la pérdida de su capacidad para adaptarse al estrés metabólico en el tiempo adecuado (9,10).

En este proceso se producen cambios en la matriz extracelular dérmica (MEC). La dermis está dividida en las capas papilar superior (PAP) y reticular inferior (RET), que se distinguen por sus diferentes perfiles de la MEC. Mientras que la dermis papilar se caracteriza por una MEC relativamente más delgada y de disposición laxa, así como por una alta densidad celular, la dermis reticular contiene una red de fibras matriciales más gruesa y densa, y una baja densidad celular. Entre todos los tipos de células cutáneas, los fibroblastos dérmicos son la principal fuente de MEC cutánea y los que están más estrechamente asociados con ella. La MEC es capaz de regular la proliferación y la migración de los fibroblastos dérmicos, e influye en su

diferenciación y señalización. Su plasticidad y significado durante el envejecimiento depende de los cambios en su composición con la edad, incluyendo alteraciones del colágeno, elastina, metaloproteinasas, proteoglicanos, glicosaminoglicanos, fibrilinas y proteínas matricelulares (11).

### **1.2 Implicaciones fisiológicas y patológicas del deterioro de la matriz extracelular dérmica.**

La degradación de la MEC conduce a importantes implicaciones que inciden no solo en el envejecimiento cutáneo natural, sino también en el desarrollo de enfermedades dermatológicas. El fotoenvejecimiento, provocado por la acción acumulativa de especies reactivas de oxígeno (ROS) que derivan de las radiaciones ultravioletas, se caracteriza por la aparición de arrugas profundas y pérdida de elasticidad, promoviendo la degradación progresiva de la MEC mientras disminuye la capacidad de reparación del tejido cutáneo (12). Dado el impacto de las ROS en este proceso, los antioxidantes se han convertido en estrategias terapéuticas invaluable para atenuar el fotoenvejecimiento.

### **1.3 Factores intrínsecos y extrínsecos del envejecimiento cutáneo.**

Los factores intrínsecos están relacionados con el envejecimiento cronológico del organismo en relación con una disminución considerable y cada vez mayor en la capacidad de reparación del ADN. Igual se experimenta un acortamiento de los telómeros y alteraciones en las vías de señalización celular, entre otros síntomas que alertan sobre la llegada de la vejez (13,14). Estas alteraciones internas acarrear la reducción de la producción de colágeno y elastina, dos proteínas esenciales para la elasticidad y firmeza de la piel. Aunado a ello, se produce un incremento en la actividad de las metaloproteinasas de matriz (MMPs), las cuales degradan los componentes estructurales de la dermis y contribuyendo a la formación de arrugas y pérdida de firmeza (15,16).

Por su parte, los factores extrínsecos son aquellos relacionados con el entorno y el estilo de vida. A la exposición periódica y prolongada a la radiación ultravioleta (UV) se le responsabiliza de ser el factor de mayor incidencia dentro de este grupo. La UV estimula la formación de ROS y la disminución de la capacidad antioxidante endógena, provocando daño en el ADN, proteínas y lípidos celulares (17). Este proceso origina el estrés oxidativo y la

activación de las MMPs. Aunque el tabaquismo, la mala alimentación, el estrés y la contaminación ambiental son factores para considerar, varias investigaciones han demostrado que la exposición prolongada a la luz UV es el agente causal de hasta el 80% del envejecimiento prematuro. A este proceso suele llamársele fotoenvejecimiento y sus signos clínicos incluyen arrugas profundas, manchas hiperpigmentadas, pérdida de elasticidad y textura áspera (13,14).

#### **1.4 Especies reactivas de oxígeno y su papel en la degradación de la matriz extracelular dérmica.**

En la piel, alrededor del 1,5-5% del oxígeno consumido se convierte en ROS mediante procesos intrínsecos (18). Las ROS se producen continuamente como productos secundarios en la cadena de transporte de electrones del metabolismo aeróbico en las mitocondrias y se consideran la principal causa del envejecimiento intrínseco. Los queratinocitos y fibroblastos son los principales productores de ROS "mitocondriales" en la piel. Además, la radiación ultravioleta y la contaminación ambiental son capaces de generar especies reactivas de oxígeno (ROS) involucradas en la degradación de la MEC. Las ROS incluyen radicales libres como el superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), y el radical hidroxilo ( $OH^{\cdot}$ ), las que aparecen representadas en la **Tabla 1**.

El radical hidroxilo ( $OH^{\cdot}$ ) posee una alta reactividad y puede causar daños graves a estructuras cutáneas susceptibles. Los radicales hidroxilos se pueden producir en las células mediante diversos procesos como: a) la fagocitosis; b) la biosíntesis de prostaglandinas; c) el impacto de xenobióticos tóxicos; d) las radiaciones ionizantes; e) la reacción de Fenton, y f) la descomposición de hidroperóxidos lipídicos. La generación fotoquímica de radicales  $OH^{\cdot}$  promovida por la radiación UV impacta sobre la oxidación del ADN produciendo roturas de cadena, generando muerte celular, cambios cromosómicos, mutaciones y transformaciones morfológicas en la piel (19).

**Tabla 1.** *Especies reactivas de oxígeno. Radicales libres y no libres. Fuente: (20). Modificado por: (21)*

Radicales	No Radicales		
Anión superóxido	$O_2^-$	Oxígeno singlete	$^1O_2$
Hidroxilo	$OH^-$	Peróxido de hidrógeno	$H_2O_2$
Peroxilo	$RO_2^-$	Ozono	$O_3$
Alcoxilo	$RO\cdot$	Anión peroxinitrito	$ONOO^-$
Hidroperoxilo	$HO_2^-$	Ácido hipocloroso	$HOCl$
Radical oxido nítrico	$NO\cdot$	Ácido hipo bromoso	$HOBr$
		Lípido hidroperóxido	$LOOH$

Las ROS son capaces de inducir daño oxidativo y afectar un considerable y muy variado número de componentes celulares y extracelulares, siendo la MEC una de las más afectadas (22). Las estructuras más importantes y abundantes de la MEC son el colágeno, la elastina y los glicosaminoglicanos. Tanto en el envejecimiento intrínseco como en el extrínseco, se observan cambios cualitativos y cuantitativos en estas estructuras mediado por las ROS. Esto provoca pérdida de resistencia a la tracción y capacidad de recuperación, formación de arrugas, sequedad, alteración de la cicatrización de heridas y aumento de la fragilidad (18).

Aunque algunos mecanismos de envejecimiento se superponen, la piel intrínsecamente envejecida y la piel fotoenvejecida presentan cambios diferentes en la MEC. A nivel global, la piel intrínsecamente envejecida muestra atrofia de las estructuras dérmicas, mientras que la piel fotoenvejecida se caracteriza por la acumulación de fibras de elastina y glicosaminoglicanos aberrantes, junto con colágeno dañado y disminuido en la MEC (23).

### 1.5 La elastina, tirosina y el envejecimiento cutáneo.

La elastina es una proteína estructural de primordial importancia en el tejido conectivo de los animales vertebrados, incluyendo los seres humanos. Es una proteína esencial con una baja tasa de renovación, lo cual dificulta su reemplazo ante insultos mecánicos y ambientales repetidos.

Su principal función es la de brindar elasticidad, permitiendo la deformación de los tejidos del cuerpo por estiramiento y que luego recuperen su forma original (24).

En la piel ejerce la misma función y su deterioro está provocado por la elastasa, enzima que pertenece a las proteasas, la cual activada por la presencia de ROS. Esta enzima provoca la degradación de la elastina, lo que conlleva no solo a la pérdida de elasticidad, sino que los péptidos que de este de ella se derivan pueden ocasionar efectos biológicos que contribuyen a la inflamación crónica y al envejecimiento dérmico (25). Se han realizado estudios in vitro que han demostrado que las ROS generadas por sistemas enzimáticos como xantina/xantina oxidasa (XOD) degradan la tropoelastina (proteína polipéptido) precursor soluble de la elastina. Este proceso puede ser parcialmente inhibido por antioxidantes como la catalasa (26).

A nivel cutáneo se indica que la fragmentación de la elastina es una de las características más comunes que indican el descenso de la curva de funcionamiento de un organismo joven, indicando la llegada de la vejez (27). Un rasgo característico de la piel fotoenvejecida es la deposición de elastina anormal. El examen histológico revela fibras elásticas gruesas, alteradas y muy ramificadas que forman agregados de material elastótico. Este material se forma mediante la combinación de la degradación de la elastina inducida por rayos UV o ROS, y la biosíntesis de elastina y fibrilina amorfas y disfuncionales (23).

La repetida exposición suberitemal a los rayos UVB y UVA en la piel aumenta la deposición de elastina anormal, probablemente debido al aumento de niveles de ROS inducidos por los rayos UV. Se ha demostrado que las ROS aumentan los niveles de ARNm de elastina en los fibroblastos dérmicos (28).

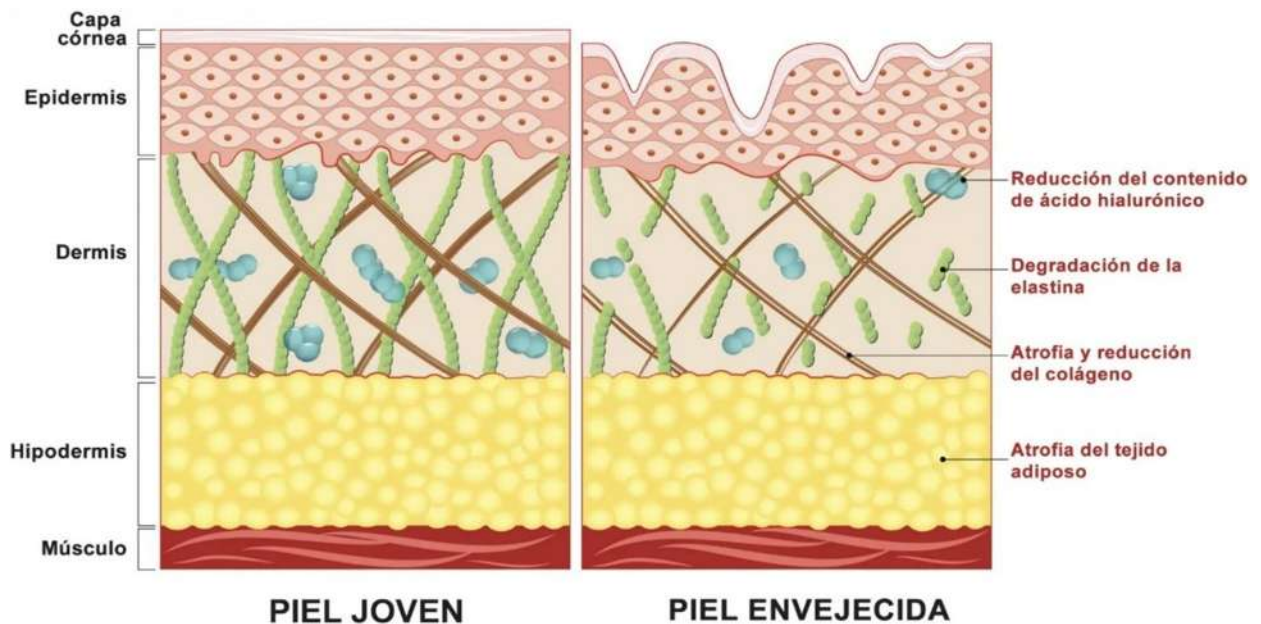
Por su parte, la tirosina es un aminoácido no esencial que juega un papel importante en múltiples procesos biológicos, especialmente en la síntesis de melanina, pigmento responsable de la coloración de los ojos, el cabello y nuestra piel. Este pigmento se produce en células especializadas llamadas melanocitos. En ellas, este aminoácido actúa como precursor en la biosíntesis de la melanina a través de varias reacciones catalizadas esencialmente por la enzima tirosinasa (29).

Este aminoácido no solo participa en la pigmentación, sino que también tiene implicaciones en la señalización celular cutánea, en rutas metabólicas como dopamina, noradrenalina y

adrenalina, las cuales pueden intervenir en procesos de inflamación, vasodilatación y cicatrización (30).

### 1.6 El papel de las enzimas elastasa y tirosinasa durante el envejecimiento.

Entre las varias hipótesis que han intentado explicar el proceso de envejecimiento cutáneo existe una que se relaciona con la presencia de desequilibrios de los mecanismos de protección antioxidantes, lo que detona cambios estructurales y funcionales en la piel (31). Se destaca la exposición a la UV precedentes con el aumento en la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS). Las ROS a su vez generan la fosforilación de los receptores tirosina quinasa que desencadenan la activación de algunas vías críticas de señalización intracelular; como las proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAPK), el factor nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B) y la proteína (AP)-1 (32). Esto conlleva a la promoción de la síntesis y liberación de citocinas proinflamatorias y metaloproteína 1 (MMP-1), quienes comienzan el proceso de degradación del colágeno de la estructura dérmica (32) (**Figura 1**).



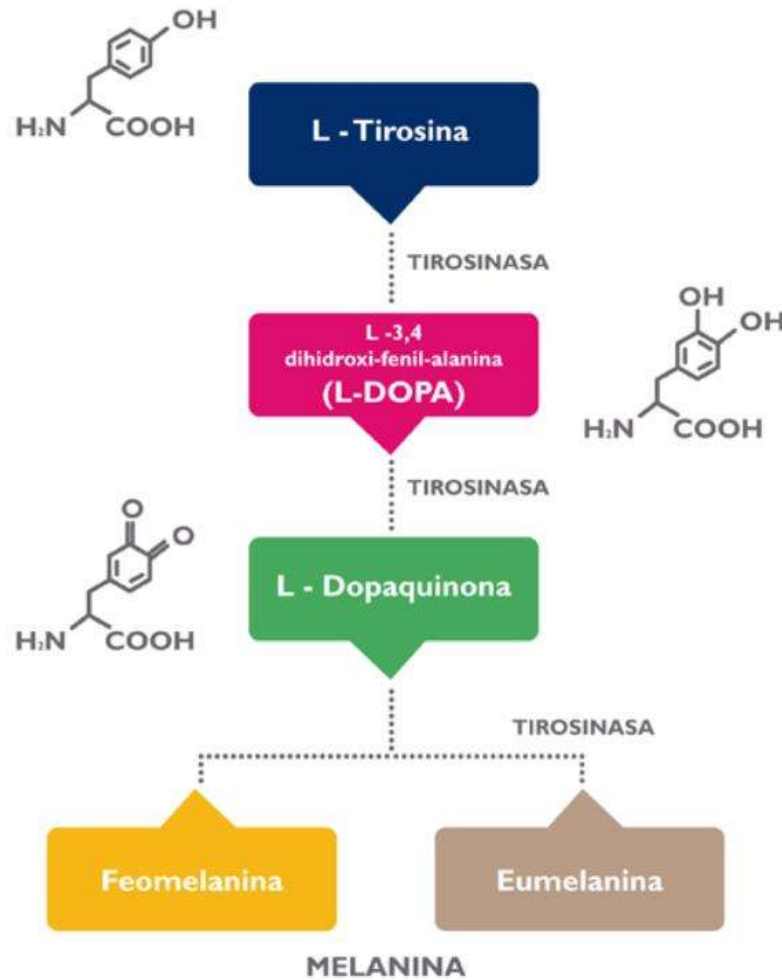
*Figura 1. Degradación de componentes de la matriz extracelular dérmica MEC*

La manera en la que se produce el envejecimiento de nuestra piel ha sido abordada en varios estudios donde se ha sugerido que la radiación (UV) es la responsable de alrededor del 90% de los cambios estructurales y funcionales que edades tempranas sufre nuestra piel (33). Ello implica, cambios en enzimas relacionadas con la elasticidad y pigmentación cutáneas como la elastasa y tirosinasa.

Las enzimas elastolíticas entre las que se encuentra la elastasa son proteasas que tienen la función de degradar la elastina. Células como los neutrófilos, macrófagos y fibroblastos son las encargadas de producir estas, las cuales desempeñan un papel clave en procesos fisiológicos como, la remodelación tisular y la cicatrización de heridas. Así, el aumento excesivo de la actividad de la elastasa puede desencadenar la degradación de la elastina mediante la ruptura de sus enlaces peptídicos. Esto provocaría la activación de componentes esenciales del sistema inmunitario encargados de la destrucción de patógenos y la inflamación como respuesta inmunitaria. Por lo que no solo flacidez o la aparición de arrugas se generan por la degradación de la elastina, sino también, procesos como la inflamación crónica y al daño tisular en varias enfermedades (34–36)

Además, durante el envejecimiento cutáneo existe un incremento de lesiones de lentigo solar (manchas de la edad). Estas manchas que van apareciendo con el tiempo están caracterizadas por la presencia de un número incrementado de melanocitos tirosinasa positivos por longitud de interfase dérmica-epidérmica. Los melanocitos son células especializadas que residen principalmente en la capa basal de la epidermis, y son los responsables de producir y distribuir melanina, un pigmento relacionado con el color de la piel y la presencia de manchas. Dentro de estas células y muy específicamente en orgánulos especializados llamados melanosomas es que tiene lugar la síntesis de melanina a partir del aminoácido tirosina. En este proceso la enzima clave es la tirosinasa (38).

La tirosinasa oxida la tirosina a L-DOPA (3,4-dihidroxifenilalanina) y posteriormente a dopaquinona, pasos iniciales en la vía melánica que culminan en la formación de eumelanina o feomelanina, dependiendo de factores genéticos y ambientales (**Figura 2**).



*Figura 2. Mecanismo de acción de la tirosinasa. Fuente: (39)*

Esta síntesis de melanina no solo define el tono de piel, sino que también cumple funciones de fotoprotección al absorber radiación ultravioleta (UV) y disminuir el daño inducido por la radiación solar (32,40,41).

### 1.7 Los antioxidantes naturales en la dermocosmética.

Los antioxidantes pueden ser compuestos tanto naturales como sintéticos que tienen como finalidad proteger las células contra daños causados por los radicales libres. Son abundantes en la naturaleza y los podemos encontrar en numerosos alimentos, especialmente en frutas,

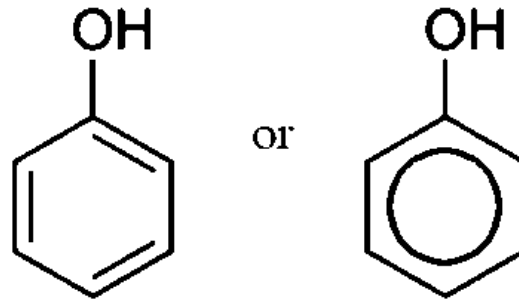
verduras, cereales integrales y frutos secos (42,43). Entre los más conocidos se encuentran las vitaminas C y E, el betacaroteno, el selenio y un gran número de polifenoles. Estas sustancias ayudan a mantener en equilibrio la producción de radicales libres, lo cual es esencial para mantener una buena salud. Además, el papel que desempeñan en la salud es crucial, en especial, si consideramos la capacidad que tienen en la modulación del sistema inmunológico y la prevención de daños a nivel celular, lo que los convierte en aliados importantes en la prevención de enfermedades (44,45).

En la piel, el antioxidante hidrosoluble predominante es la vitamina C; mientras que la vitamina E o alfa-tocoferol predomina en las membranas celulares y el estrato córneo. En pieles fotoenvejecidas, las concentraciones de antioxidantes intrínsecos como el  $\alpha$ -tocoferol, ácido ascórbico y el glutatión son generalmente más bajas (46), lo que sugiere la utilidad de una suplementación con antioxidantes exógenos para contrarrestar los signos de la edad.

Dentro de este grupo se destacan los polifenoles (47), quienes han encontrado aplicaciones como ingredientes en formulaciones cosmeceúticas (32). Su notoriedad se ha relacionado con su abundancia en la naturaleza, sus diversos mecanismos de acción y la rentabilidad de su obtención.

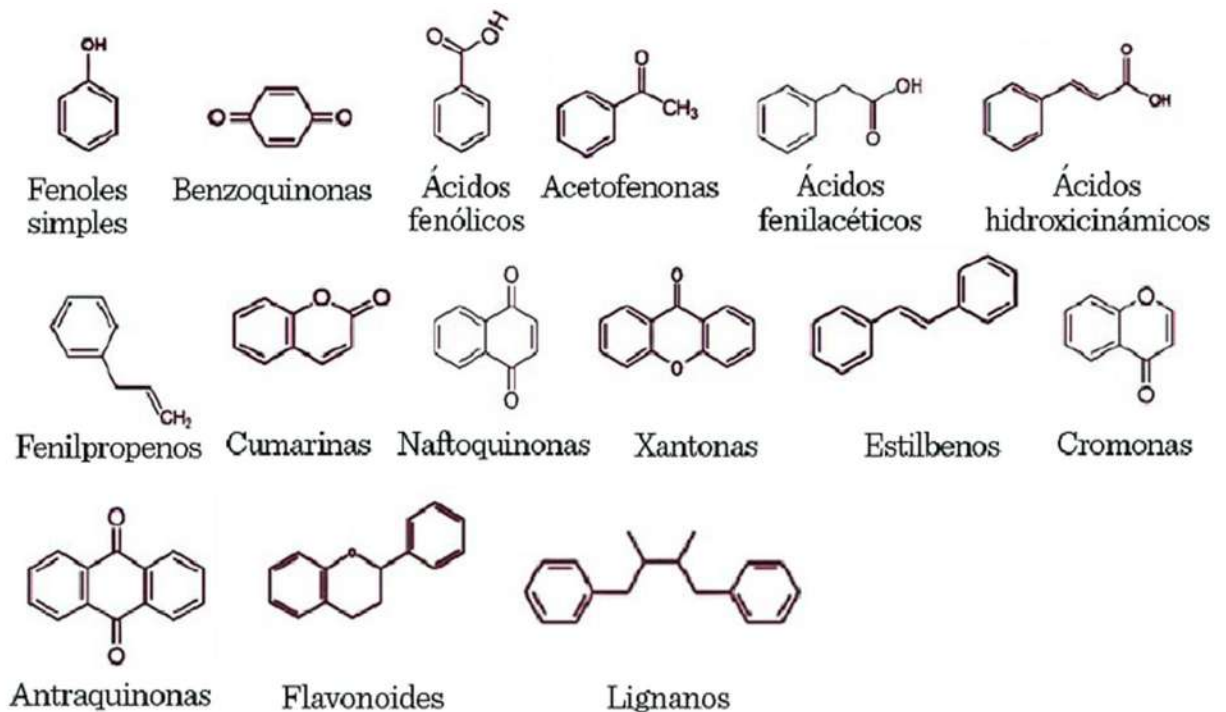
### **1.8 Características estructurales de los polifenoles y su actividad antioxidante.**

Estructuralmente los fenoles son un grupo variado de moléculas caracterizados por la presencia de un anillo aromático unido a uno o más grupos OH (**Figura 3**). Dentro de esta gran familia de compuestos representados en la **Figura 4**, donde podemos encontrar: flavonoides, lignanos, taninos, ácidos fenólicos y fenoles simples (48).



**Figura 3.** Estructura básica de un fenol. Fuente: Wikipedia

Los mecanismos mediante los cuales estas moléculas contrarrestan los signos de la edad se relacionan con: a) su acción inhibitoria del edema e inflamación inducida por la luz UV; b) su acción antioxidante; c) su acción inhibitoria sobre enzimas involucradas en el envejecimiento, notablemente elastasa, tirosinasa, hialuronidasa y colagenasa d) estimulación de mecanismos de mecanismos de defensa celular (47). En la siguiente figura se muestran algunos de las principales clases de polifenoles (**Figura 4**).



**Figura 4.** Estructura química de las principales familias de polifenoles. Fuente: (49)

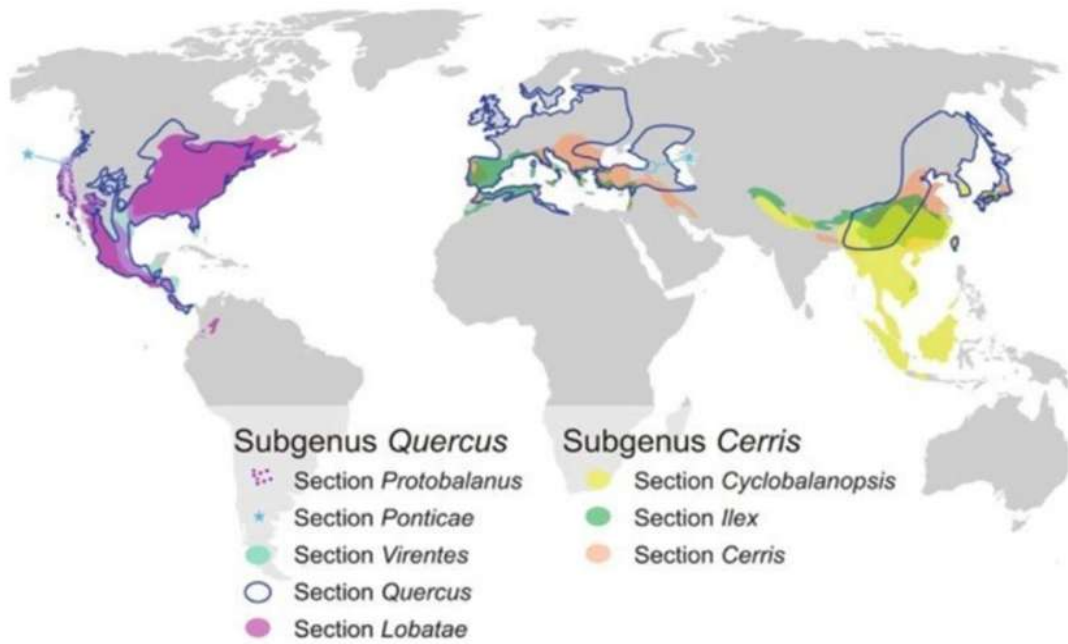
### 1.9 Fuentes naturales de polifenoles.

Los polifenoles están ampliamente distribuidos en el reino vegetal por lo que se han identificadas numerosas fuentes de origen natural entre las que se incluyen frutas, verduras, cereales, legumbres, especias, bebidas fermentadas y extractos de plantas medicinales. En tal sentido podemos mencionar algunas que destacan como las uvas (*Vitis vinifera*), manzanas (*Malus domestica*), arándanos, moras y fresas, todas ricas en flavonoides, antocianinas y taninos (50,51). También se han identificado compuestos fenólicos en altas concentraciones en cebolla (*Allium cepa*), brócoli (*Brassica oleracea*) y la espinaca (*Spinacia oleracea*) (50).

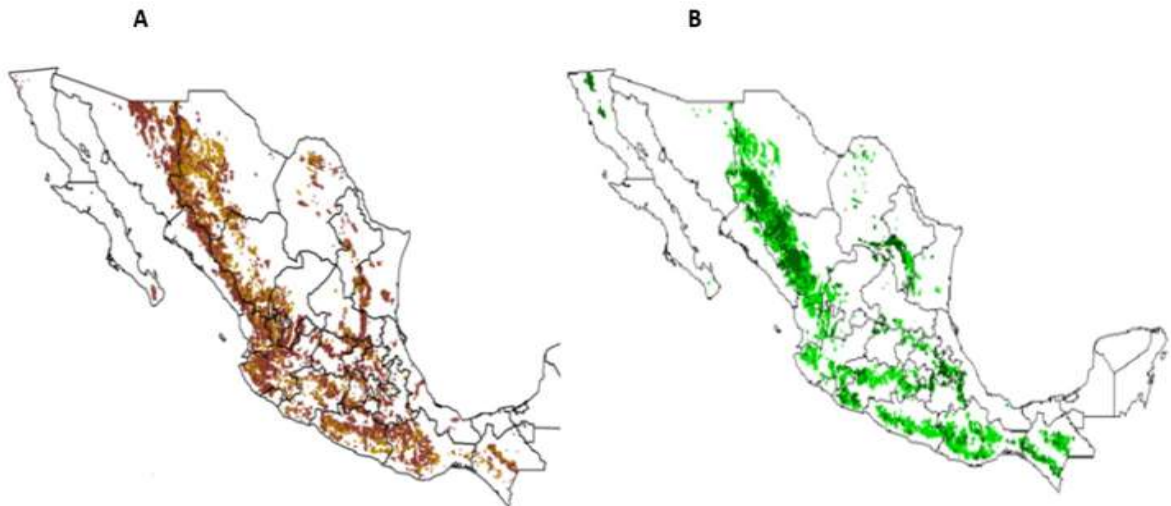
Se reporta que bebidas como el té verde (*Camellia sinensis*) y el vino tinto contienen altas concentraciones de catequinas, ácido gálico y resveratrol, respectivamente (51,52). Se considera que el cacao (*Theobroma cacao*), es una de las fuentes más potentes de antioxidantes dietéticos debido a su riqueza en flavanoles (53,54), así como los cereales (el trigo y la avena) y las legumbres (como las lentejas y la soja) aunque en menor proporción que las frutas o infusiones (52). Se estima que la variabilidad en cuanto al contenido y tipo de polifenoles depende del origen geográfico, el clima, el método de cultivo y las condiciones de procesamiento, lo que ha motivado estudios a nivel global para caracterizar su perfil fitoquímico y efectos funcionales. En plantas medicinales, como el romero (*Rosmarinus officinalis*), el tomillo (*Thymus vulgaris*) y algunas especies del género *Quercus* se evalúa el potencial de sus extractos polifenólicos sobre la actividad biológica (55).

### 1.12 Los encinos y su uso potencial en la industria cosmecéutica.

*Quercus* es uno de los géneros de árboles con mayor distribución a nivel mundial. Se estima que existen aproximadamente 450 especies identificadas y caracterizadas a nivel mundial (**Figura 5**), de las cuales entre 135 y 150 se encuentran en México. De estas especies, 86 son consideradas endémicas. Entre sus principales usos destaca el aprovechamiento de la madera (5). También se ha determinado que este género presenta una amplia distribución y abundante diversidad a lo largo y ancho del territorio mexicano (56) (**Figura 6**). En estudios previos sobre la composición polifenólica en algunas especies se ha identificado una amplia gama de compuestos bioactivos que podrían ser utilizados en la industria del cuidado de la piel (5,7).

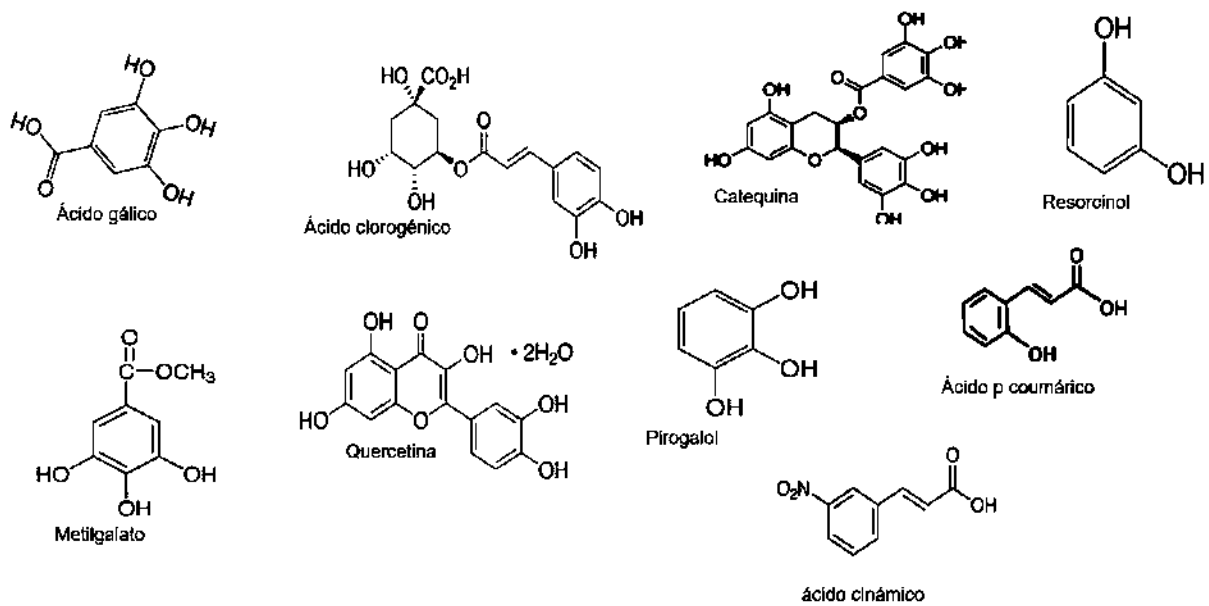


**Figura 5.** Mapa de distribución mundial de los encinos. Fuente: (57)



**Figura 6.** Mapas de distribución de los bosques de encino en México. 5A) encino (café oscuro); 5A) encino-pino (Café claro); 5B) pino-encino (verde claro) y 5B) pino (verde oscuro). Fuente: (58)

Entre los compuestos identificados destacan los polifenoles, aunque no son los únicos a los que se les podría atribuir el potencial antioxidante de los extractos, habiendo sido otros compuestos como terpenos, terpenoides encontrados en su composición. En la Figura 7 se muestran algunos de los fenoles que se han reportado en los extractos de encinos, especialmente provenientes de sus cortezas. A pesar de ello, la corteza de los encinos, que en sí misma es un recurso forestal no maderable continúa siendo subutilizada, siendo considerada como un recurso forestal no maderable infravalorado.



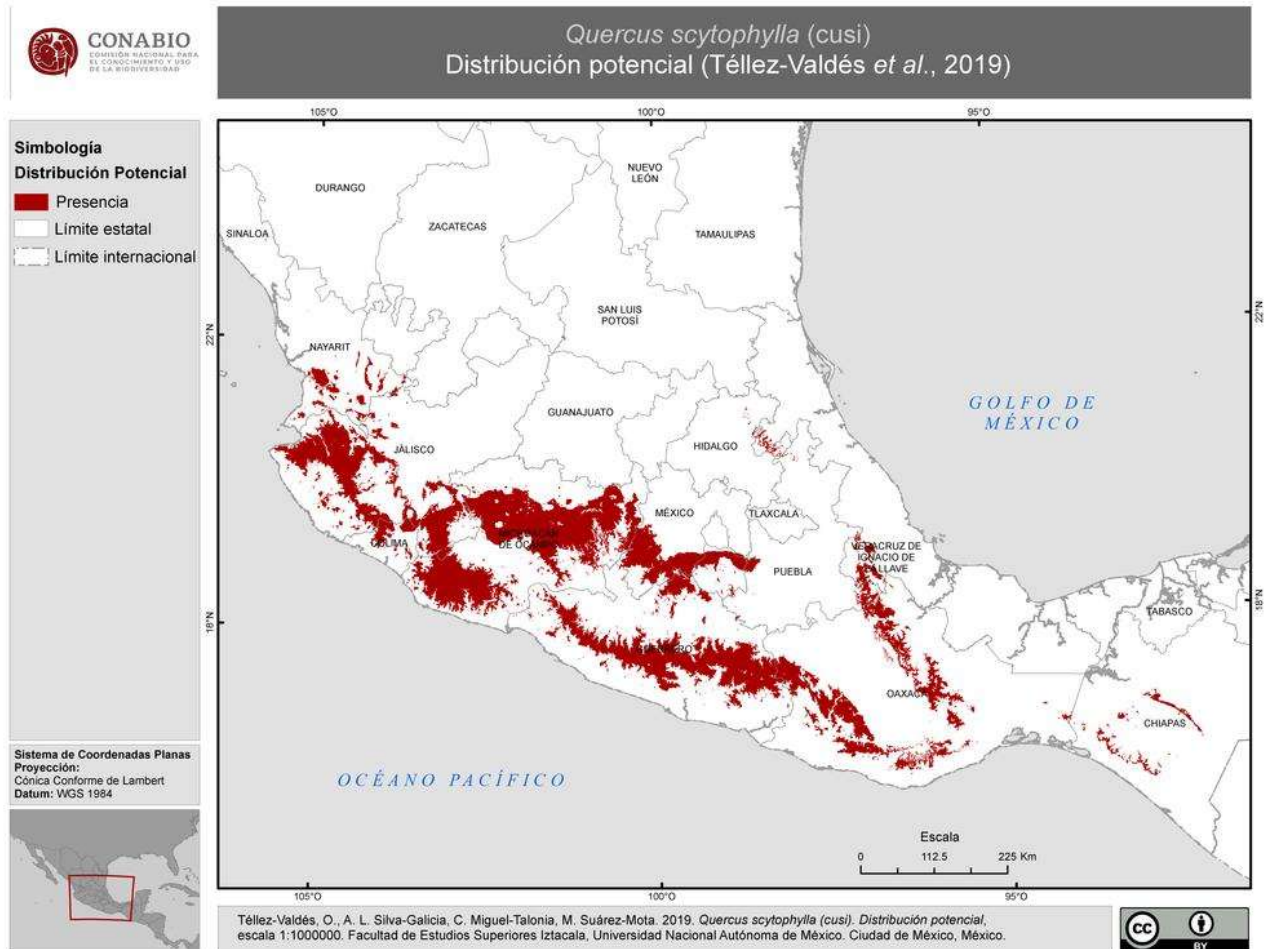
**Figura 7.** Principales fenoles identificados en especies del género *Quercus*. Fuente: (59)

### 1.10 Distribución de la especie *Quercus scytophylla* en México y Michoacán.

*Quercus scytophylla*, es una especie comúnmente conocida como encino blanco, ampliamente distribuida en el estado de Michoacán, México. Estudios recientes han documentado su presencia en diversas regiones fisiográficas del estado de Michoacán, incluyendo el Altiplano Mexicano, la Faja Volcánica Transmexicana, la Sierra Madre del Sur y la Depresión del Balsas-Tepalcatepec. Se puede encontrar en ambientes templados semiáridos, semicálidos a templados húmedos y subhúmedos, al igual que en ambientes cálidos, donde puede formar bosques mixtos

junto con otras especies de encinos, asociarse con comunidades coníferas en altitudes medias y altas o elementos de bosques tropicales caducifolio y bosque espinoso (**Figura 8**). Este patrón de distribución permite percibir la adaptabilidad del *Quercus scytophylla* a una variedad de condiciones ambientales y su importancia ecológica en los ecosistemas forestales de Michoacán (56).

### Ecuación 1



**Figura 8.** Distribución geográfica del *Quercus scytophylla* en México. Fuente: (60)

### 1.11 Estudios previos realizados en *Quercus scytophylla*.

Referente a las especies del género *Quercus* en general se han realizado estudios para evaluar el efecto de los flavonoides más importantes encontrados en algunas especies para el

tratamiento del melasma y la psoriasis, dos patologías cutáneas prevalentes (4). *Quercus scytophylla* se ha empleado en estudios que involucran la determinación su módulo de rigidez y se ha comparado con el de especies maderables de importancia comercial en México. Los resultados sugieren la utilización de la madera de esta especie en diferentes formas, secciones y longitudes en la industria de la arquitectura, construcción, ebanistería y utensilios de madera (61). Se le ha determinado su resistividad eléctrica y se ha comparado con la de otras especies (*Pinus pseudostrobus*, *Tabebuia rosea*) dando como resultado valores inferiores a los de *Pinus pseudostrobus* y superiores a los *Tabebuia rosea* (62).

Estudios previos realizados por nuestro equipo de investigación han demostrado que el extracto acuoso derivado de cortezas de *Quercus scytophylla* (QSAE) posee un contenido interesante de polifenoles con excelentes propiedades antioxidantes (7). Este resultado sugiere que este extracto podría aprovecharse para el desarrollo de nuevos productos dermatológicos antiedad. Sin embargo, su uso racional en formulaciones dermatológicas implica seguir esquemas de desarrollo farmacéutico con vistas a generar productos eficaces para la población (63). Esto incluye la evaluación de su potencial cosmeceútico y el análisis de su composición química con vistas a desarrollar nuevas formulaciones dermatológicas exhaustivamente caracterizadas desde el punto de vista químico.

La presente investigación evalúa por vez primera la capacidad del QSAE sobre enzimas involucradas en la degradación de la matriz extracelular dérmica y el envejecimiento cutáneo. Además, se identifican los compuestos mayoritarios presentes en el extracto y su capacidad de inhibir individualmente y en combinación estas enzimas con vistas a aportar pistas acerca de su contribución a los efectos antienzimáticos encontrados. Los resultados obtenidos no solo contribuirán al desarrollo de futuras aplicaciones del QSAE, sino que también promoverán el uso racional y sostenible de los recursos forestales no maderables en la formulación de nuevos productos cosmeceúticos de alto valor agregado

## 2. JUSTIFICACIÓN

El envejecimiento cutáneo está asociado con el estrés oxidativo y la activación de enzimas relacionadas con la hiperpigmentación y pérdida de elasticidad de la piel, proceso que puede ser atenuado por extractos naturales ricos en polifenoles. Previamente se ha demostrado que el extracto acuoso de cortezas *Quercus scytophylla* (QSAE) posee una elevada concentración de compuestos fenólicos antioxidantes que podría aprovecharse para el desarrollo de nuevos productos dermatológicos anti-edad. Sin embargo, dada la carencia de investigaciones sobre esta temática, se hace necesario evaluar el potencial anti-edad del QSAE e identificar sus metabolitos secundarios más prometedores con vistas a proponer futuras aplicaciones de las cortezas de esta especie de encino mexicana para el desarrollo de nuevos productos cosmecéuticos de alto valor agregado.

## 3. HIPÓTESIS

El QSAE presenta actividad antioxidante, pudiendo inhibir significativamente la actividad de las enzimas tirosinasa y elastasa, involucradas en el envejecimiento de la piel, gracias a los efectos individuales y sinérgicos de sus metabolitos activos.

## 4. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la capacidad antioxidante e inhibitoria del QSAE y de sus metabolitos mayoritarios sobre la actividad de las enzimas tirosinasa y elastasa.

## 5. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Determinar el contenido de fenoles totales, ácidos hidroxicinámicos, proantocianidinas y flavonoides en el QSAE.
- ✓ Identificar los metabolitos mayoritarios presentes en el QSAE.
- ✓ Determinar la capacidad antioxidante del QSAE para captar al radical hidroxilo.
- ✓ Determinar la actividad inhibitoria *in vitro* del QSAE y de sus metabolitos mayoritarios sobre la actividad de enzimas involucradas en el envejecimiento.

- ✓ Evaluar las interacciones sinérgicas, aditivas y/o antagónicas sobre la actividad enzimática de los metabolitos mayoritarios identificados en el QSAE *in silico*.

## 6. METODOLOGÍA

### 6.1 Obtención del QSAE

#### 6.1.2 Colecta de las cortezas

La colecta de las cortezas de *Q. scytophylla* se realizó en una huerta de aguacates, ubicada en el Cerro del Águila, municipio de Iratzio, Michoacán de Ocampo, México (Latitud: 19.419756°, Longitud: 101.976952°). Las muestras se tomaron de un mismo árbol y llevadas al laboratorio para proceder con la limpieza manual y eliminación de la mayor cantidad de impurezas que pudieran afectar el resultado de la investigación. La identificación botánica se realizó en el Instituto de Ecología A. C. Centro Regional del Bajío (IEB-INECOL), posterior a la cuestación de ramas con hojas.

#### 6.1.3 Determinación del porcentaje en humedad de la corteza de *Q. scytophylla*

Las cortezas colectadas se secaron en estufa a 40 °C hasta que alcanzaron un porcentaje de humedad inferior al 10% con el objetivo de preservarlas de la hidrólisis y la contaminación microbiana. La determinación del porcentaje en humedad de las cortezas se realizó según lo establecido en la NOM 083 (64).

#### 6.1.4 Obtención del QSAE

Se pesaron 30 g de la corteza seca, pulverizada y tamizada en malla No. 40, equivalente a un tamaño de partícula menor a 0,4mm y se mezclaron con 300 ml de agua a una temperatura de (90-100°C) mediante reflujo durante 1 h. Los sólidos se separaron por filtración con papel Whatman No.96 y la biomasa residual se lavó con 300 ml de agua bajo el mismo tratamiento (65). El extracto acuoso obtenido después de filtrado y liofilizado se depositó en frascos ámbar y se conservó a una temperatura de (4°C) hasta su utilización. El porcentaje de rendimiento del

extracto acuoso liofilizado se determinó considerando el peso inicial (rendimiento real) y el peso final (rendimiento teórico) como se describió previamente (66).

## **6.2 Caracterización química del QSAE**

La caracterización química del QSAE se llevó a cabo considerando su contenido total de fenoles totales, ácidos hidroxicinámicos, flavonoides y proantocianidinas por métodos espectrofotométricos (67–69). Los resultados de cada prueba fueron comparados con los del extracto comercial Oligopin® (DTR, Francia) reconocido por su capacidad antioxidante y utilizado ampliamente en la formulación de productos dermatológicos antiedad. En la determinación se consideraron cinco repeticiones para cada muestra. Para una caracterización química más exhaustiva el extracto se analizó por cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas (GC-MS). Los detalles de estos métodos se describen en las secciones subsecuentes.

### **6.2.1 Contenido de fenoles totales**

Para la determinación del contenido de fenoles totales se agregaron 250  $\mu\text{L}$  de Folin Ciocalteu en agua destilada [1:1]; 250  $\mu\text{L}$  de carbonato de sodio [7.5%] y 250  $\mu\text{L}$  de la muestra. Las muestras se homogenizaron y durante 30 min se incubaron en un baño de agua a 40 °C. Transcurrido el tiempo de incubación se les agregó 2.0 mL de agua destilada y se les midió la absorbancia en un espectrofotómetro (UV/VIS Spectrophotometer, VE-5600UV) a una longitud de onda de (A750 nm). Los resultados obtenidos se expresaron como equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra (mgEAG/ g de muestra) (69).

### **6.2.2 Determinación del contenido de ácidos hidroxicinámicos totales**

Para determinar el contenido de ácidos hidroxicinámicos totales se agregaron 500  $\mu\text{L}$  de la muestra; 1.0 mL de ácido clorhídrico [0.5 M]; 1.0 mL del reactivo de Arnow (nitrito de sodio [10%] y molibdato de sodio [10%] en agua destilada); 1.0 mL de hidróxido de sodio [2.125 M] y 1.5 mL de agua destilada. Luego de homogenizar las muestras se midió la absorbancia 525

nm (A525 nm). Los resultados se expresaron como equivalentes de ácido clorogénico por gramo de muestra (mgEACl/ g de muestra) (65).

### **6.2.3 Determinación del contenido en proantocianidinas totales**

El contenido de proantocianidinas totales se determinó a partir de la mezcla de 650  $\mu$ L de la muestra, a la cual se le agregaron 130  $\mu$ L de una solución férrica (sulfato de amonio férrico dodecahidratado [2%] en ácido clorhídrico [2 M]). Después de homogenizarla se le agregaron 3900  $\mu$ L de butanol ácido (n-butanol y ácido clorhídrico [95:5]) y se homogenizó nuevamente. Al terminar se cubrieron las muestras con papel aluminio y se incubó a 95 °C durante 40 min. Se dejaron enfriar con hielo durante 10 min a temperatura ambiente durante 5 min. Pasado el tiempo señalado anteriormente se determinó su absorbancia 550 nm (A550 nm). El resultado de cada muestra se expresó como el equivalente de cloruro de cianidina por gramo de muestra (mg ECIC/ g de muestra) (68).

### **6.2.4 Determinación del contenido de flavonoides totales**

Para la determinación del contenido de flavonoides totales se agregó 2.0 mL de la muestra; 2.0 mL de solución cloruro de aluminio [2%]; la mezcla se homogenizó y se incubó a 20 °C durante 1 hora. Luego de ello se homogenizó y se determinó su absorbancia 415 nm (A415 nm). Los resultados fueron expresados como el equivalente de quercetina por gramo de muestra (mgEQ/g de muestra) (67).

## **6.3 Identificación de compuestos mayoritarios en el QSAE por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS)**

La GC-MS es una técnica analítica que permite la separación, identificación y cuantificación de compuestos en mezclas complejas con una amplia aplicación en numerosos campos de la ciencia por su alta sensibilidad, selectividad. El proceso transita por dos etapas concatenadas que permiten la identificación de los compuestos mayoritarios; la cromatografía de gases que incluye la volatilización de la muestra e introduce la muestra por una columna cromatográfica

donde los compuestos según su volatilidad y afinidad por la fase estacionaria se separan y la detección por la espectrometría de masas. En esta fase los compuestos se ionizan y son fragmentados por el espectrómetro de masas, siendo el patrón de fragmentación la característica distintiva que facilita la identificación de cada compuesto.

Para la identificación de los compuestos mayoritarios, se pesó 1 g de la muestra que fue reconstituido con 1 ml de agua grado masas, luego se le adicionó 1 ml de acetonitrilo y se sometió a sonicación por 1 h. Posteriormente se agregaron 0,9 g de sulfato de magnesio anhidro y 0,1 g de acetato de sodio. Al terminar se centrifugó y se filtró mediante acrodiscos Agilent de 0,2  $\mu\text{m}$ . La mezcla se inyectó mediante el método de Splitless a una temperatura de fuente de 280 °C con un flujo de 7 ml/min y una temperatura de entrada al horno que fue desde los 70 °C hasta alcanzar los 300 °C en un Cromatógrafo de Gases Agilent 7890-B GC system acoplado a un detector de masas triple cuádruplo 7000C, con una columna HP5-MS de 0,250 mm, espesor de 0,25  $\mu\text{m}$  y un largo de 30 m. El gas acarreador en la fase móvil fue el Helio de ultra alta pureza y el gas de colisión el nitrógeno de alta pureza. La interpretación de datos se realizó con el programa Enhanced Mass Hunter Versión 5.32 y NIST MS search 2.2, fue la base de datos de apoyo para la identificación de los compuestos (70).

#### **6.4 Evaluación de la capacidad del QSAE para captar al radical hidroxilo**

Para la determinar de la capacidad del QSAE de capturar el radical hidroxilo se utilizó la metodología de (71) con algunas modificaciones. Se agregó 1 mL del extracto a diferentes concentraciones (100, 200, 300, 400 y 500 ppm), 300  $\mu\text{L}$  de sulfato ferroso heptahidratado [8 mM] y 250  $\mu\text{L}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  [20 mM]. La iniciación de la reacción tuvo lugar a partir de que se agregó 1 mL de ácido salicílico [3 mM]. Las muestras se incubaron durante 30 min a una temperatura de 37 °C. Transcurrido el tiempo bajo las condiciones antes descritas a las muestras se les agregó 450  $\mu\text{L}$  de agua destilada y se midió su absorbancia (A510 nm). Los resultados se compararon con los obtenidos para el extracto comercial de Oligopin<sup>®</sup>, en concentraciones que fueron desde los 250  $\mu\text{g/mL}$ - 2000  $\mu\text{g/mL}$ . Para el cálculo del porciento de inhibición del radical se utilizó la fórmula que se muestra a continuación.

$$\%Scavenging=100 \left[ \frac{A_0-(A_1-A_2)}{A_0} \right]$$

### 6.5 Determinación la actividad inhibitoria in vitro del QSAE sobre enzimas elastasa y tirosinasa.

La literatura científica muestra evidencia que involucra a las enzimas tirosinasa y elastasa con el proceso de deterioro de la matriz extracelular, lo cual promueve el envejecimiento de la piel. Por tanto, con un enfoque claro en el objetivo general de este estudio, se procedió a evaluar la capacidad del QSAE para inhibir en un 50% la actividad de estas enzimas (IC<sub>50</sub>) mediante espectrofotometría. Las pruebas se realizaron por cuadruplicado y se consideró la absorbancia de la enzima sin inhibidor como la mayor actividad de esta. Por regresión no lineal se calculó la IC<sub>50</sub> y los resultados se compararon con los obtenidos de los controles positivos de referencia para cada enzima (72).

#### 6.5.1 Determinación de la capacidad del extracto QSAE para inhibir la actividad de la enzima Elastasa.

Se evaluó la capacidad del QSAE del extracto sobre la enzima elastasa. Para ello se utilizó una microplaca de 96 pozos en la que se agregaron 30 µL de solución Tris-HCl (0.2 mM, pH = 8.0), 15 µL de enzima elastasa (Elastase from porcine pancreas, EC Number: 3.4.21.36) [7 U/mL] y 30 µL de la muestra a diferentes concentraciones. Posteriormente se incubó durante 30 min a temperatura ambiente con agitación constante, transcurrido el tiempo se agregaron 75 µL del sustrato N-Succinil-Ala-Ala-Ala-p- nitroanilina (SANA) [1.6 mM] y se volvió a incubar durante 30 min bajo las mismas condiciones anteriormente mencionadas. Al culminar se midió la absorbancia de las muestras (A<sub>410 nm</sub>) en un Varioskan Flash (Thermo Scientific). Se utilizaron dos controles positivos, la Epigallocatequina galato (EGCG) como un inhibidor de esta encima ampliamente utilizado en la industria cosmética y el extracto de Oligopin® que se obtiene la corteza del pino francés (*Pinus pinaster*) por su insuperable y testeada efectividad antioxidante (72–74).

### **6.5.2 Determinación de la capacidad del QSAE para inhibir la actividad de la enzima Tirosinasa.**

Para determinar la capacidad inhibitoria del QSAE sobre la actividad de la enzima tirosinasa se utilizó una microplaca de 96 pozos y en cada uno de ellos se agregaron 90  $\mu\text{L}$  de solución PBS (50 mM, pH = 6.5), 110  $\mu\text{L}$  de L-tirosina [2 mM] y se incubó 10 min a temperatura ambiente. Posteriormente se agregaron 70  $\mu\text{L}$  de la muestra a diferentes concentraciones, luego 30  $\mu\text{L}$  de la enzima tirosinasa (Tyrosinase from mushroom, EC Number: 1.14.18.1) [62  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ] y se procedió a incubar durante 5 min. Finalmente se determinó la absorbancia (A475 nm) de las muestras cada 2 min durante 20 min en un Varioskan Flash (Thermo Scientific). Se utilizaron dos controles positivos, el ácido fólico por su capacidad demostrada para inhibir la actividad de la enzima y el Oligopin®, extracto que se obtiene de la corteza del Pinus pinaster con una demostrada eficacia como antioxidante y antiinflamatorio (72,74).

### **6.6 Evaluación de la capacidad inhibitoria de los compuestos mayoritarios sobre las enzimas tirosinasa y elastasa.**

El análisis cromatográfico reveló que el extracto era rico en metabolitos como el 2,4 di-terc butilfenol (2,4DTBP),  $\alpha$ -tocoferol y myo-inositol. Por consiguiente, se estudió su capacidad individual de estos compuestos para inhibir las enzimas tirosinasa y elastasa. De esta forma se pudo comprender si el potencial inhibitorio dependía en cierta medida la presencia de estos metabolitos en el QSAE. Entender el mecanismo de acción de los principios activos de estos compuestos facilita relacionar establecer relaciones estructura-actividad, según sea el caso.

#### **6.6.1 Capacidad anti-elastasa de los compuestos mayoritarios.**

En la evaluación de la capacidad de los compuestos 2,4DTBP,  $\alpha$ -tocoferol y myo-inositol se utilizó una microplaca de 96 pozos en la que se agregaron 30  $\mu\text{L}$  de solución Tris-HCl (0.2 mM, pH = 8.0), 15  $\mu\text{L}$  de enzima elastasa (Elastase from porcine pancreas, EC Number: 3.4.21.36) [7 U/mL] y 30  $\mu\text{L}$  de la muestra a diferentes concentraciones por cuadruplicado para cada concentración de los tres compuestos (10-320  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ). Posteriormente se incubó durante 30 min a temperatura ambiente con agitación constante y transcurrido el tiempo se agregaron 75

$\mu\text{L}$  del sustrato N-Succinil-Ala-Ala-Ala-p- nitroanilina (SANA) [1.6 mM] volviéndose a incubar durante 30 min con agitación constantemente. Posteriormente se procedió a medir la absorbancia de las muestras (A410 nm) en un Varioskan Flash (Thermo Scientific) (72–74) (72–74).

### 6.6.2 Capacidad anti-tirosinasa de los compuestos mayoritarios.

Se evaluó la capacidad los compuestos mayoritarios anteriormente mencionados para inhibir la actividad de la enzima tirosinasa. En una microplaca de 96 pozos se agregaron 90  $\mu\text{L}$  de solución PBS (50 mM, pH = 6.5), 110  $\mu\text{L}$  de L-tirosina [2 mM] y se incubaron durante 10 min a temperatura ambiente con agitación constante. Luego se adicionaron 70  $\mu\text{L}$  de la muestra a diferentes concentraciones (10-320  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) cada una de ellas por cuadruplicado para cada compuesto y se adicionaron 30  $\mu\text{L}$  de la enzima tirosinasa (Tyrosinase from mushroom, EC Number: 1.14.18.1) [62  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ]. Se dejaron en incubación durante 5 min con agitación constante a temperatura ambiente. Finalizado el tiempo se midió absorbancia (A475 nm) de las muestras cada 2 min durante 20 min en un Varioskan Flash (Thermo Scientific) (72,74).

### 6.7 Evaluación de las interacciones de las mezclas binarias sobre la actividad enzimática *in silico*.

La estimación de las respuestas sinérgicas, antagónicas o aditivas de la mezcla binaria de los compuestos mayoritarios antes mencionados presentes en el QSAE se determinó considerando metodologías previamente descritas (75,76). Este modelo se basa en la Ley de Acción de Masas (LAM), fundamentada en modelos de cinética enzimática y teorías de unión a receptores. Se utilizaron simulaciones de procesador de sinergismo y antagonismo que involucran la ecuación del Efecto Mediano (EEM), la Fracción Afectada (Fa) y la ecuación del Índice de Combinación (CI) según la siguiente ecuación:

$${}^nCI_x = \sum_{j=1}^n \frac{(D)_j}{(D_x)_j} = \sum_{j=1}^n \frac{(D_x)_{1-n} \{ [D]_j / \sum_i^n [D] \}}{(D_m)_j \{ (fa_x) / [1 - (fa_x)_j]^{1/m_j} \}}$$

Donde  $n(IC)_x$  corresponde al Índice de Combinación para  $n$  sustancias al  $x\%$  de efecto ( $f_a$ ),  $(D)_j$  pertenece a la concentración de cada sustancia en la inhibición del  $x\%$  ( $f_a$ ) en combinación, y  $(D_x)_j$  ajusta la concentración de cada sustancia individualmente en la inhibición del  $x\%$ .  $[D]_j/\sum n_1$  es la concentración individual de  $n$  sustancias que causan la fracción afectada ( $f_a$ ) del  $x\%$  en combinación,  $(D_m)_j \{ (f_{ax})_j / [1 - (f_{ax})_j]^{1/m} \}$  es la concentración de compuestos individuales que causan el efecto del  $x\%$  ( $f_a$ ),  $f_{ax}$  es el efecto fraccional ( $f_a$ ) al  $x\%$ ,  $D_m$  es el antilogaritmo de la intersección con el eje  $x$ , y  $m$  es la pendiente del gráfico del efecto mediano. Si dos sustancias presentan mecanismos de acción similares, un  $CI < 1$  indica sinergismo; en contraste, si muestran mecanismos diferentes y son independientes, tienen un  $CI > 1$ ; exhibirán antagonismo. Cuando el  $CI \approx 1$ , se indica adición. Los valores del  $CI$  se evaluaron en la  $F_a$  del 10, 25, 50, 75 y 95% en la inhibición de la actividad enzimática de la tirosinasa y la elastasa. Las concentraciones utilizadas para las interacciones binarias fueron aquellas equivalentes al  $IC_{50}$  determinado para el 2,4-di-ter butilfenol (2,4-DTBP) de 174,81  $\mu\text{g/mL}$ ,  $\alpha$ -tocoferol de 58,62  $\mu\text{g/mL}$  y myo-inositol de 284,81  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , respectivamente. El análisis se realizó a través del paquete de software farmacológico CompuSyn Versión 1.0 (ComboSyn Inc., Paramus, NJ, USA).

## 7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para los análisis que corresponden a la caracterización química, la determinación de la capacidad antioxidante del QSAE sobre el radical hidroxilo y la determinación de la capacidad inhibitoria del extracto sobre las enzimas tirosinasa y elastasa se realizaron cinco repeticiones. Se comprobó que los datos cumplieran con los supuestos de normalidad, aleatoriedad y homogeneidad de varianza mediante las pruebas de Lilliefors ( $p \leq 0.05$ ). Los resultados en todos los casos se compararon con los obtenidos del extracto comercial Oligopin<sup>®</sup> mediante las pruebas de t- Student (t-test) para los datos que cumplieron con los supuestos y su homóloga Mann- Whitney para aquellos que no.

El resultado final se expresó como la media  $\pm$  la desviación estándar (SD) y se utilizaron los softwares estadísticos Past 4 Versión 4.7.0.0. (2023), JMP Statistic Discovery from SAS versión 11.0.0 (32 bits) y GraphPad Prism 8.0.1 [244] (2018). Mediante el software JASP 0.19.3

se realizó un análisis de correlación de Spearman entre el contenido de fenoles, flavonoides, ácidos hidroxicinámicos y proantocianidinas totales con respecto a la capacidad inhibitoria del QSAE sobre las enzimas elastasa y tirosinasa.

## 8. RESULTADOS

### 8.1 Colecta e identificación botánica de *Quercus scytophylla*

La **Figura 9** muestra la geolocalización del sitio donde se obtuvo las muestras de cortezas de *Quercus scytophylla* en una huerta localizada en el Cerro del Águila, municipio Iratzio, Michoacán.



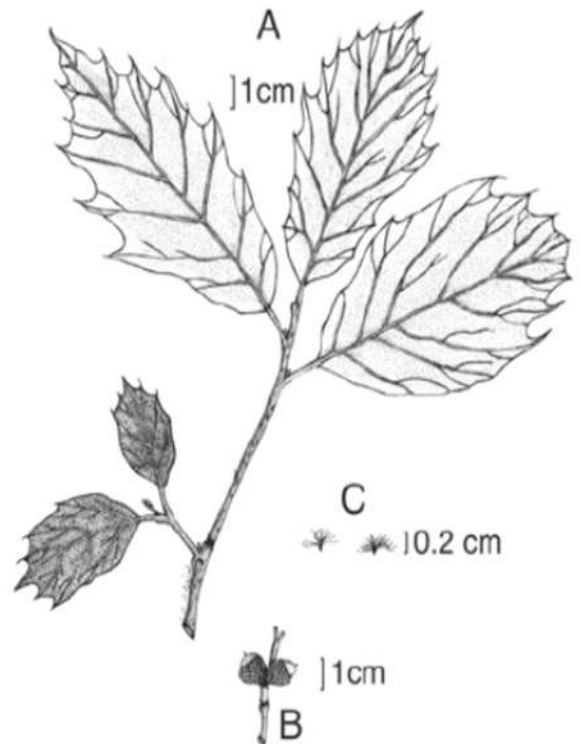
**Figura 9.** Geolocalización del sitio de colecta de la corteza del *Quercus scytophylla* mapa digital de México-INEGI

En la **Figura 10** se destacan algunas de las características botánicas puntuales, necesarias para la identificación botánica de las muestras. El registro del ejemplar en el herbario del Instituto de Ecología recibió el número de voucher 7056 (IEB, duplicados en MEXU, CIMI y EBUM).

---

Nombre científico:	<i>Quercus scytophylla</i> Liebm
Familia:	Fagaceae
Localidad:	Cerro del Águila, Iratzio, Michoacán
Latitud:	19.64172°
Longitud:	101.38807°
Altitud:	2460 m.s.n.m
Estado:	Michoacán de Ocampo
Fecha de colecta:	1 de abril de 2023
Habitad:	Huerta de Aguacate
Colector:	Yosniel Peña Hernández
Observaciones:	Árbol de porte medio con unos 5 m de altura que se identifica por sus hojas con bordes cerrados, flores pequeñas y frutos en pares

---



*Figura 10. Características botánicas de Quercus scytophylla. Fuente: (Calzada 21882, IZTA)*

## 8.2 Caracterización química del QSAE

### 8.2.1 Contenido de fenoles totales, flavonoides, ácidos hidroxicinámicos y proantocianidinas.

El rendimiento de extracción del extracto correspondió al  $18.0 \pm 2.4\%$  con respecto a la corteza seca, mismo que presentó un porcentaje de humedad del 3%. La **Tabla 2** muestra los resultados del contenido de fenoles totales, ácidos hidroxicinámicos, flavonoides y proantocianidinas del QSAE, mismos se compararon con el extracto comercial Oligopin<sup>®</sup>. El extracto comercial mostró un mayor contenido de fenoles totales y proantocianidinas en comparación con el QSAE, mientras que este último presentó niveles superiores de ácidos hidroxicinámicos respecto al Oligopin<sup>®</sup>. Ambos extractos tuvieron concentraciones similares de flavonoides.

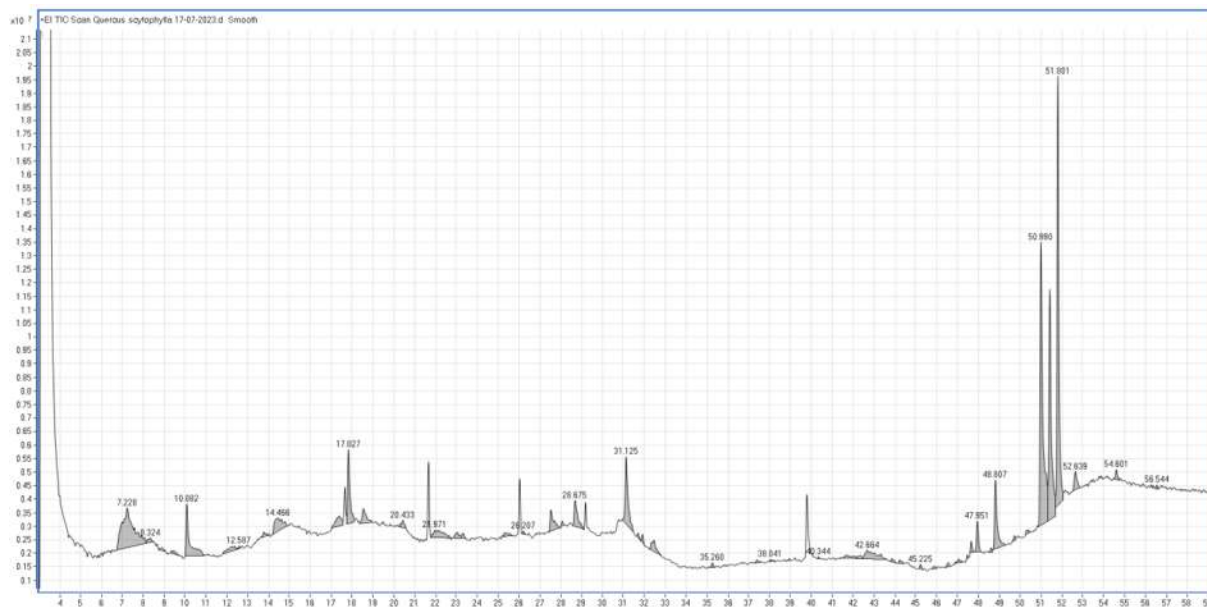
**Tabla 2.** Contenido de fenoles, flavonoides, ácidos hidroxicinámicos y proantocianidinas totales del QSAE y el Oligopin®

Extracto	Fenoles totales (mgEAG/ g)	Flavonoides totales (mgEQ/ g)	Ácidos hidroxicinámicos (mgEACI/ g)	Proantocianidinas (mgECIC/ g)
<i>Quercus scytophylla</i>	240,84 ±14,02 <sup>b</sup>	5,41±0,78 <sup>a</sup>	195,10 ±3,24 <sup>a</sup>	12,44 ±4,18 <sup>b</sup>
Oligopin®	383,60 ±30,87 <sup>a</sup>	3,72 ±0,30 <sup>a</sup>	154,86 ±8,97 <sup>b</sup>	32,84 ±4,95 <sup>a</sup>

Valores que comparten la misma columna y tienen diferentes letras indican que diferencia estadísticamente significativa para un  $p$  valor  $\leq 0,05$  ( $t$ -student para variables que cumplen con los supuestos que requieren las pruebas paramétricas y Mann-Whitney para las que no cumplen con tales). EAG equivalentes de ácido gálico, EQ equivalentes de quercetina, EACI equivalentes de ácido clorogénico y ECIC equivalentes de cloruro de cianidina.

### 7.3.2 Compuestos identificados mediante GC-MS en el QSAE.

La identificación cromatográfica permitió la identificación de 51 compuestos. La **Figura 11** muestra el cromatograma obtenido mediante el análisis por GC-MS, nótese que los picos más prominentes, corresponden a los compuestos mayoritarios identificados en el QSAE. Los compuestos mayoritarios correspondieron al lupan-3-ol (RT=51.8 min); 9,19-cyclolanostane-3,7-diol (RT=51.4 min);  $\beta$ -sistosterol (RT=50.9 min);  $\alpha$ -tocoferol (RT=48.8 min), 6-Octadecenoic acid (RT=31,1 min) y 2,4 di-terc butilfenol (RT=17.8 min). La identificación de los compuestos mostrados en la **Figura 11** se muestra en la **Tabla3**.



**Figura 11.** Cromatograma del QSAE obtenido por GC-MS

**Tabla 3.** Listado de compuestos identificados en el QSAE mediante GC-MS

No.	R/T (Min)	Área Real (%)	Compuestos	Clasificación
1	7,228	10,4238	Phenol, 2-methoxy-, acetate	Ésteres
2	8,324	0,3846	3,5-Heptadien-2-one, 6-methyl-, (E)-	Cetonas
3	8,895	0,2532	Ethanone, 1-(1-cyclohexen-1-yl)-	Cetonas
4	9,456	0,3591	2,6,8-Trimethylbicyclo [4.2.0]oct-2-ene-1,8-diol	Dioles
5	10,082	4,1791	Benzene, 1,3-bis(1,1-dimethylethyl)-	Hidrocarburos
6	12,394	0,8529	3-Isobutyldihydropyrazin-2-one	Amidas
7	12,587	0,0762	2-Isopropoxyphenol	Fenoles
8	13,775	0,2932	Propanoic acid, 2-(4-hydroxyphenoxy)-2-methyl-, ethyl ester	Ésteres
9	14,466	2,4426	2,4-Dimethoxyphenol	Fenoles
10	17,385	1,3774	Isolongifolol	Terpenos
11	17,827	3,8103	2,4-Di-tert-butylphenol	Fenoles
12	18,545	1,3988	Widdrol hydroxyether	Ésteres
13	20,433	0,5322	Methyl phaseate	Ésteres

14	21,971	1,8076	9-Ethoxy-10-oxatricyclo [7.2.1.0(1,6)]dodecan-11-one	Lactonas
15	23,049	0,5042	Bicyclo[4.3.0]nonan-7-one, 1-(2-methoxyvinyl)-	Cetonas
16	23,316	0,3056	Zingerone	Fenoles
17	25,305	0,4182	Pyridine-3-carboxamide, N-(methyl) (4-methylphenyl)- oxosulfanylidene-2-methylthio-	Amidas
18	26,207	0,0985	$\beta$ -Himachalenoxide	Terpenos
19	27,524	1,6654	1-Propyl-3,6-diazahomoadamantan-9-ol	Alcoholes
20	28,058	0,1779	(3-Methoxycarbonylmethyl-5-oxocyclohexyl) acetic acid, methyl ester	Ésteres
21	28,675	1,9967	1,2-Benzenedicarboxylic acid, butyl octyl ester	Ésteres
22	31,125	4,194	6-Octadecenoic acid	Ácidos grasos
23	31,687	0,1901	3 $\alpha$ ,4 $\alpha$ ,9 $\beta$ ,11-Diepoxyuurolan-10-ol	Terpenoide
24	31,908	0,2665	4,7-Methano-1H-inden-1-one, 3,4,5,6,7,8,8-heptachloro-3a,4,5,6,7,7a-hexahydro-, (3 $\alpha$ ,4 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\alpha$ ,7 $\beta$ ,7 $\alpha$ )-	Hidrocarburos
25	32,46	1,1023	Ethyl iso-allocholate	Esteroides
26	35,26	0,2049	2,2,6,7-Tetramethyl-10-oxatricyclo [4.3.0.1(1,7)]decan-5-one	Cetonas
27	37,397	0,1759	2,6,10,10-Tetramethyl-1-oxaspiro [4.5]decan-6-ol	Éteres
28	38,041	0,1134	2H-3,9a-Methano-1-benzoxepin, octahydro-2,2,5a,9-tetramethyl-, [3R-(3 $\alpha$ ,5 $\alpha$ ,9 $\alpha$ ,9 $\alpha$ )]-	Terpenos
29	40,344	0,0717	Benz[e]azulene-3,8-dione, 3a,4,6a,7,9,10,10a,10b-octahydro-3a,10a-dihydroxy-5-(hydroxymethyl)-7-(1-hydroxy-1-methylethyl)-2,10-dimethyl-, [3aR-(3 $\alpha$ ,6 $\alpha$ ,7 $\alpha$ ,10 $\beta$ ,10 $\alpha$ ,10 $\beta$ )]-	Terpenos
30	41,651	0,5372	1-Benzazirene-1-carboxylic acid, 2,2,5a-trimethyl-1a-[3-oxo-1-butenyl] perhydro-, methyl ester	Ésteres

31	42,36	0,2881	n-Propylamine, N-acetyl-3-[2-acetyl-3,4,5-trimethoxyphenyl]-	Amidas
32	42,664	2,1322	(E)-1-(2-Hydroxy-4,6-dimethoxyphenyl)-3-phenylprop-2-en-1-one	Fenoles
33	43,852	0,2225	Ethyl iso-allocholate	Esteroides
34	44,239	0,2267	6-Amino-5-cyano-4-(5-cyano-2,4-dimethyl-1H-pyrrol-3-yl)-2-methyl-4H-pyran-3-carboxylic acid ethyl ester	Ésteres
35	45,225	0,1717	Ergosta-5,22-dien-3-ol, acetate, (3 $\beta$ ,22E)-	Esteroides
36	45,879	0,139	Ent-3a,10-dihydroxy-13-iodomethyl-16-oxo-8,13-epi-17,20-dinorgibberell-1-en-7,19-dioic acid,19,10-lactone,7-methyl ester	Ésteres
37	46,56	0,2087	1,2-Cinnolinedicarboxylic acid, 1,2,3,5,6,7,8,8a-octahydro-4-trimethylsilyloxy-, diethyl ester	Ésteres
38	47,057	0,2488	Spirost-8-en-11-one, 3-hydroxy-, (3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,14 $\beta$ ,20 $\beta$ ,22 $\beta$ ,25R)-	Esteroides
39	47,463	0,1007	9-Desoxo-9-x-acetoxy-3,8,12-tri-O-acetylingol	Ésteres
40	47,647	0,3579	9,10-Secocholesta-5,7,10(19)-triene-3,24,25-triol, (3 $\beta$ ,5Z,7E)-	Esteroides
41	47,951	1,3487	Cholest-1-eno[2,1-a] naphthalene, 3',4'-dihydro-	Esteroides
42	48,605	0,166	Androstane-11,17-dione, 3-[(trimethylsilyl)oxy]-, 17-[O-(phenylmethyl)oxime], (3 $\alpha$ ,5 $\alpha$ )-	Esteroides
43	48,807	3,9941	Vitamina E	Tocoferoles
44	49,728	0,2052	ent-3a-Acetoxy-10-hydroxy-13-iodomethyl-16-oxo-8,13-epi-17,20-dinorgibberell-1-ene-7,19-dioic acid 19,10-lactone	Lactonas
45	50,391	0,2347	Glycine, N-[(3 $\alpha$ ,5 $\beta$ )-24-oxo-3-[(trimethylsilyl)oxy]cholan-24-yl]-, methyl ester	Ésteres
46	50,99	17,6885	$\beta$ -Sitosterol	Fitosteroles
47	51,414	12,5753	9,19-Cyclolanostane-3,7-diol	Triterpenoides

48	51,801	17,6968	Lupan-3-ol	Triterpenoides
49	52,639	1,1789	Demecolcine	Alcaloides
50	54,601	0,4848	Ethyl 4,4,6,6,8,8-hexamethyl-11-oxo-3,5,7,9,12-pentaoxa-4,6,8-trisilatetradecan-1-oate	Ésteres
51	56,544	0,117	2-(Acetoxymethyl)-3-(methoxycarbonyl)biphenylene	Ésteres

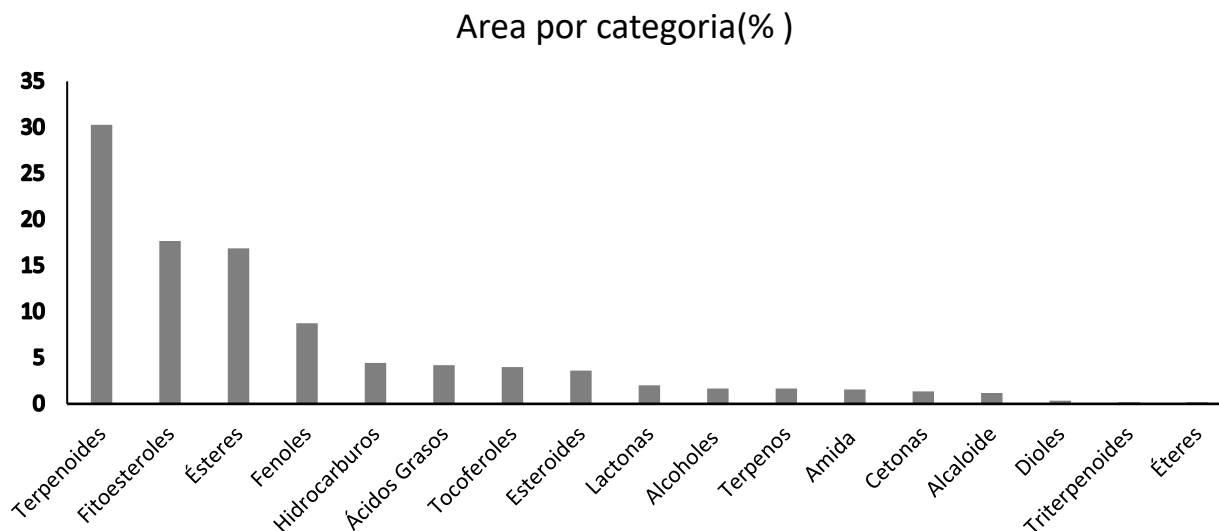
La **Tabla 4.** muestra la agrupación de los compuestos identificados por GC-MS en categorías según la clase química a la que pertenecen. Se determinó mediante la cantidad de compuesto comprendidos por categoría en porcentaje que representa cada una con respecto al total de compuestos identificados. Puede apreciarse que los esteroides ( $\approx 27\%$ ) fueron los compuestos mayoritariamente identificados, seguido de esteroides ( $\approx 14\%$ ) y fenoles ( $\approx 10\%$ ).

**Tabla 4.** Composición por categoría de los compuestos identificados y el porcentaje que representan en la muestra

Categorías	Compuestos/Categoría	Categorías (%)
Ésteres	14	27,45
Esteroides	7	13,73
Fenoles	5	9,80
Terpenos	4	7,84
Cetonas	4	7,84
Amidas	3	5,88
Terpenoides	2	3,92
Lactonas	2	3,92
Hidrocarburos	2	3,92
Tocoferoles	1	1,96
Fitosteroles	1	1,96
Triterpenoides	1	1,96
Ácidos Grasos	1	1,96
Alcoholes	1	1,96
Dioles	1	1,96

Éteres	1	1,96
Alcaloide	1	1,96

Teniendo en cuenta que cada compuesto identificado abarca un área en el cromatograma respecto al área total, se calculó el área total comprendida por categoría mediante una sumatoria de las áreas de los compuestos presentes en ellas (**Figura 12**). Puede apreciarse que los terpenoides ocupan áreas significativas dentro del cromatograma ( $\approx 30\%$ ), seguido de los fitoesteroides ( $\approx 18\%$ ), ésteres ( $\approx 17\%$ ) y fenoles ( $\approx 8\%$ ).



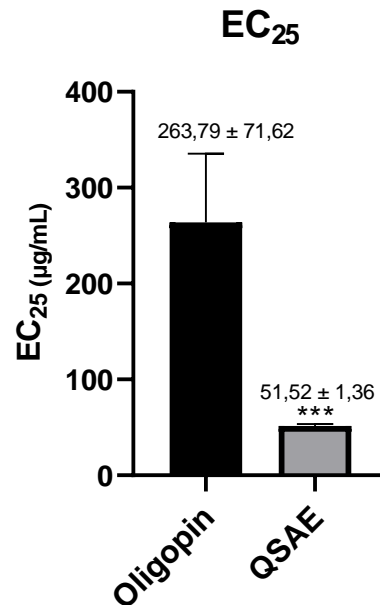
**Figura 12.** Área que representa cada familia de compuestos con respecto al área total expresada en (%).

## 7.4 Actividad antioxidante.

### 7.4.1 Determinación de la capacidad antioxidante sobre el radical hidroxilo.

La **Figura 13** muestra la capacidad antioxidante del QSAE vs. el extracto comercial Oligopin® para captar al radical (OH•), implicado en el envejecimiento cutáneo. Para ello se consideró la determinación de la concentración efectiva necesaria para inhibir la actividad del radical (OH•) en un 25% (EC<sub>25</sub>). Mientras menor es este valor, mayor es la capacidad antioxidante del extracto

estudiado. Puede apreciarse que el extracto posee una actividad antioxidante superior al extracto comercial para captar a este radical.



*Figura 13. Capacidad del QSAE y el Oligopin® para captar al radical hidroxilo. Los resultados se expresan como la media  $\pm$  la desviación estándar. (\*\*\*) , diferencial estadística altamente significativa*

Al analizar con mayor profundidad la capacidad antioxidante del QSAE en términos de clasificación fenólica analizada, se hizo evidente a partir de los datos de la correlación de Spearman que la capacidad del extracto de *Q. scytophylla* para captar al radical hidroxilo no pudo asociarse ni con el contenido en fenoles totales ( $Rho=0,00$ ;  $p=1,000$ ), ni de proantocianidinas ( $Rho=0,00$ ;  $p=0,33$ ), ácidos hidroxicinámicos ( $Rho=0,87$ ;  $p=0,33$ ) o flavonoides ( $Rho=0,86$ ;  $p=1,00$ ).

## 7.5 Capacidad del QSAE para inhibir la actividad de las enzimas tirosinasa y elastasa.

### 7.5.1 Capacidad del QSAE para inhibir la actividad de la tirosinasa.

Los gráficos muestran el resultado del comportamiento de la capacidad inhibitoria de los QSAE, Oligopin® y ácido kójico sobre la actividad tirosinasa a diferentes concentraciones. (Figura 14). Puede apreciarse que el ácido kójico, utilizado como control positivo, mostró una inhibición superior sobre la tirosinasa comparativamente al QSAE y el Oligopin®, quienes mostraron una capacidad similar para inhibir la enzima.

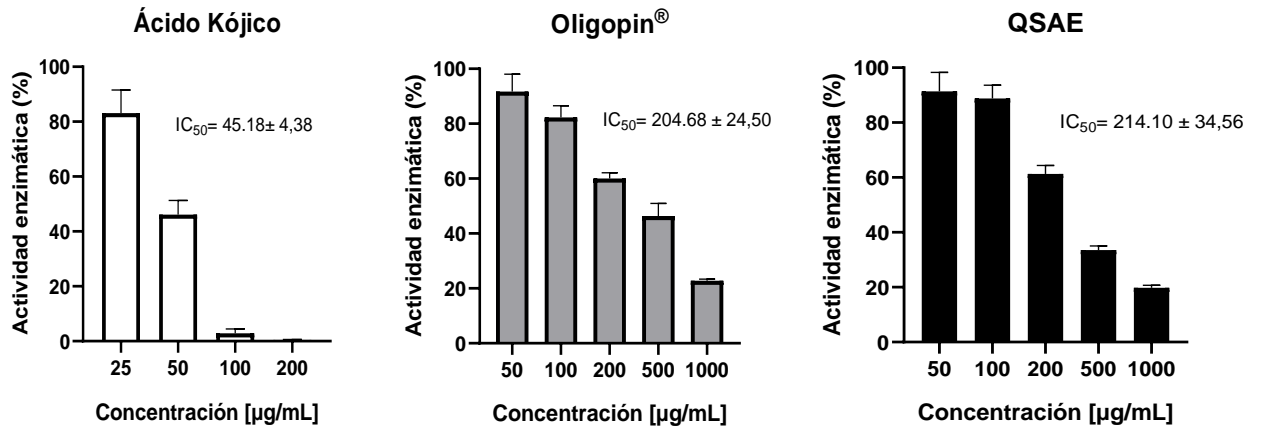
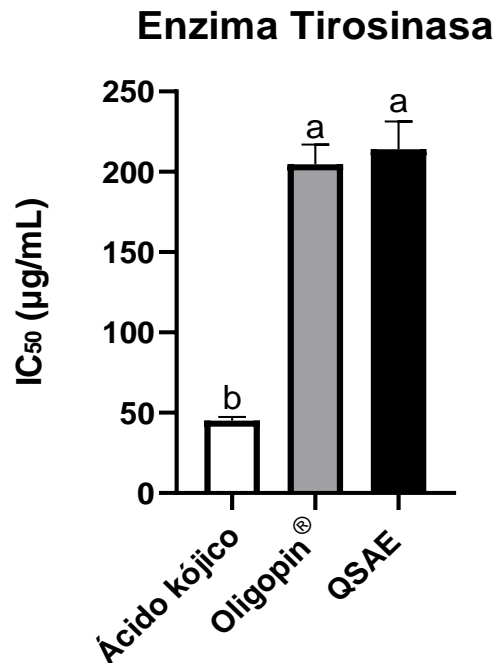


Figura 14. Actividad anti-tirosinasa del ácido kójico, Oligopin® y QSAE. Valores de las  $IC_{50}$  corresponden al promedio  $\pm$  la desviación estándar

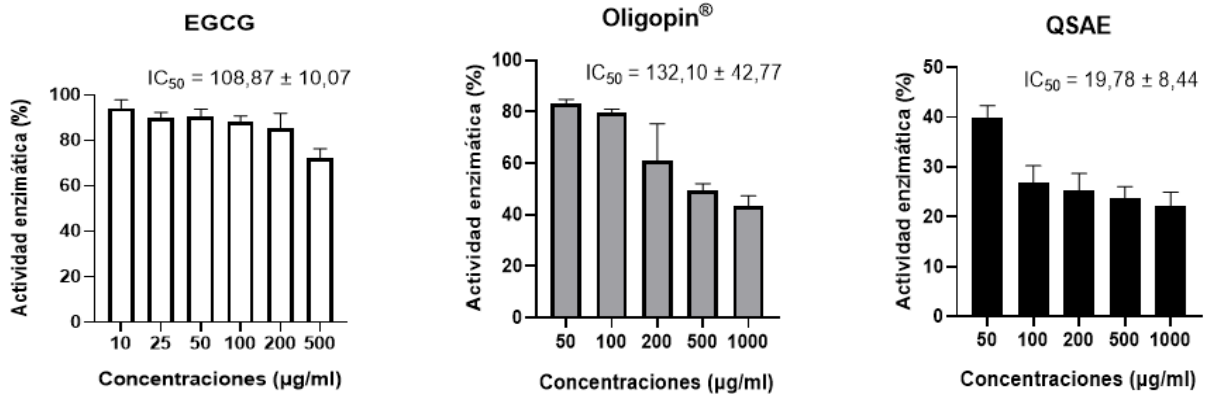


**Figura 15.** Comparación de las IC<sub>50</sub> del ácido kójico, Oligopin® y del QSAE mediante ANOVA de una vía. Las diferencias entre los grupos se determinaron con la prueba Post hoc de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Letras diferentes indican diferencias significativas entre las medias.

Al analizar la contribución de los diferentes tipos de fenoles en la capacidad del QSAE para inhibir la tirosinasa, se observó que, según la correlación de Spearman, estas moléculas no mostraron asociación con la actividad anti-tirosinasa. Lo anterior se refleja en los valores obtenidos en las correlaciones para fenoles totales (Rho=-0,56; p=0.14), flavonoides (Rho=-0,04; p=0.90), proantocianidinas (Rho=0,07; p=0.86) y ácidos hidroxicinámicos (Rho=-0,04; p=0.90).

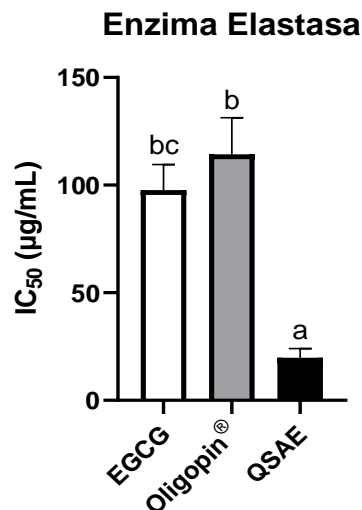
### 7.5.2 Capacidad del QSAE para inhibir la actividad de la enzima elastasa.

En la **Figura 16** se aprecian los valores de IC<sub>50</sub> de los tres tratamientos Oligopin®, Epigallocatequina galato (EGCG) y QSAE con respecto a la capacidad anti-elastasa.



**Figura 16.** Actividad anti-elastasa de la (EGCG), Oligopin® y QSAE. Valores de las  $IC_{50}$  corresponden al promedio  $\pm$  la desviación estándar

En la **Figura 17** se muestra la comparación de medias de las  $IC_{50}$  de EGCG, Oligopin y QSAE para inhibir a la enzima elastasa. Es posible constatar que el QSAE inhibió significativamente la elastasa, en forma superior a la epigalocatequina galato, empleada como control positivo, y al Oligopin®.



**Figura 17.** Comparación de las  $IC_{50}$  (EGCG), Oligopin® y QSAE mediante ANOVA de una vía. Las diferencias entre los grupos se determinaron con la prueba Post hoc de Tukey  $p \leq 0,05$ . Letras diferentes indican diferencias significativas entre las medias

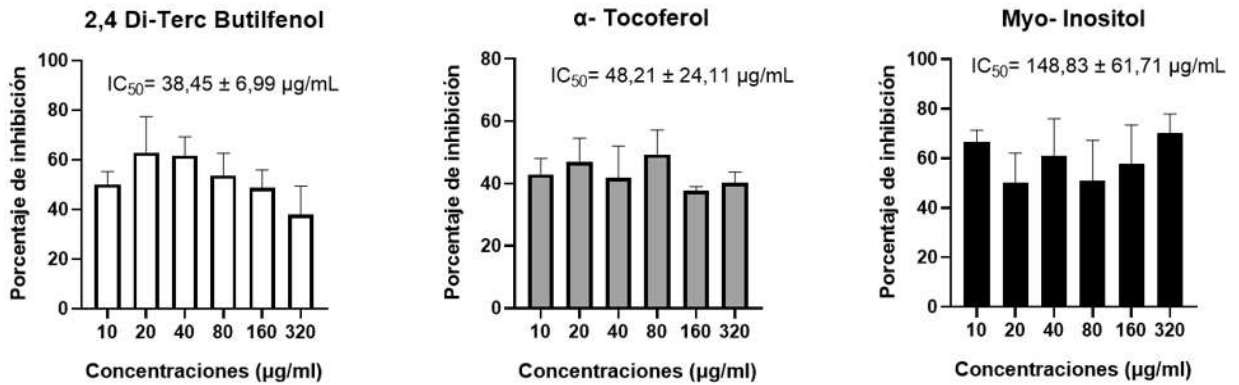
Al analizar con mayor profundidad la capacidad del QSAE en términos de las clases de compuestos fenólicos, se hizo evidente a partir de los datos de correlación de Spearman que su capacidad para inhibir a la elastasa estuvo fuertemente asociada, con el contenido en flavonoides ( $Rho=-0,87$ ;  $p<0,01$ ) y ácidos hidroxicinámicos ( $Rho=-0,87$ ;  $p<0,01$ ). Esto indicó que en la medida que este tipo de compuestos se incrementan, el extracto posee menores valores de  $IC_{50}$  y por consiguiente, mejores efectos anti-elastasa. Por el contrario, se presentó una correlación significativa negativa entre el contenido de proantocianidinas en el QSAE y la capacidad para bloquear la enzima ( $Rho=0,84$ ;  $p<0,01$ ). Del mismo modo, los fenoles totales influyeron negativamente en la capacidad para bloquear a la elastasa ( $Rho=0,77$ ;  $p<0,05$ ). Lo anterior indicaría que las proantocianidinas o los fenoles en su conjunto no serían favorables para bloquear la enzima, ya que, al incrementarse su concentración, también se incrementaría la  $IC_{50}$ .

## 7.6 Evaluación anti-enzimática de los compuestos mayoritarios del QSAE.

Para la realización de este análisis se eligió trabajar con compuestos comercialmente disponibles previamente identificados por GC-MS en el extracto de *Q. scytophylla*. Para ello se consideró trabajar con el  $\beta$ -sistosterol,  $\alpha$ -tocopherol y 2,4DTBP. Desafortunadamente, el trabajo con el  $\beta$ -sistosterol no obtuvo resultados reproducibles, dada su inestabilidad en solución, por lo que no se consideró en los experimentos finales. Además, se eligió trabajar con el myo-inositol, compuesto previamente identificado en el QSAE derivatizado (77). En la elección del myo-inositol se consideraron adicionalmente reportes de la literatura científica que describen la presencia de un perfil característico de ciclitoles como un rasgo distintivo en la composición química de extractos de especies pertenecientes al género *Quercus* (78,79).

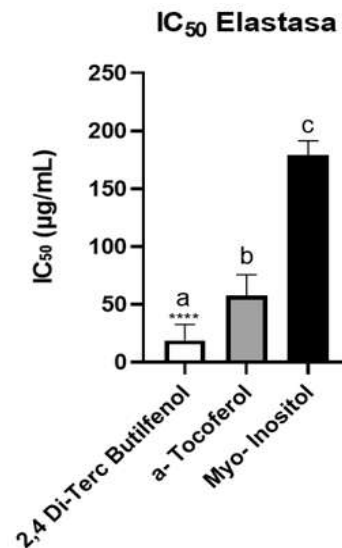
### 7.6.2 Determinación de la capacidad anti-elastasa.

La **Figura 18** representa los porcentajes de inhibición de la enzima elastasa respecto a las concentraciones de cada compuesto, además de los valores calculados de  $IC_{50}$  que corresponden a cada compuesto.



**Figura 18.** Porcentaje de inhibición de la enzima elastasa correspondiente a las concentraciones de los compuestos e  $IC_{50} \pm$  desviación estándar.

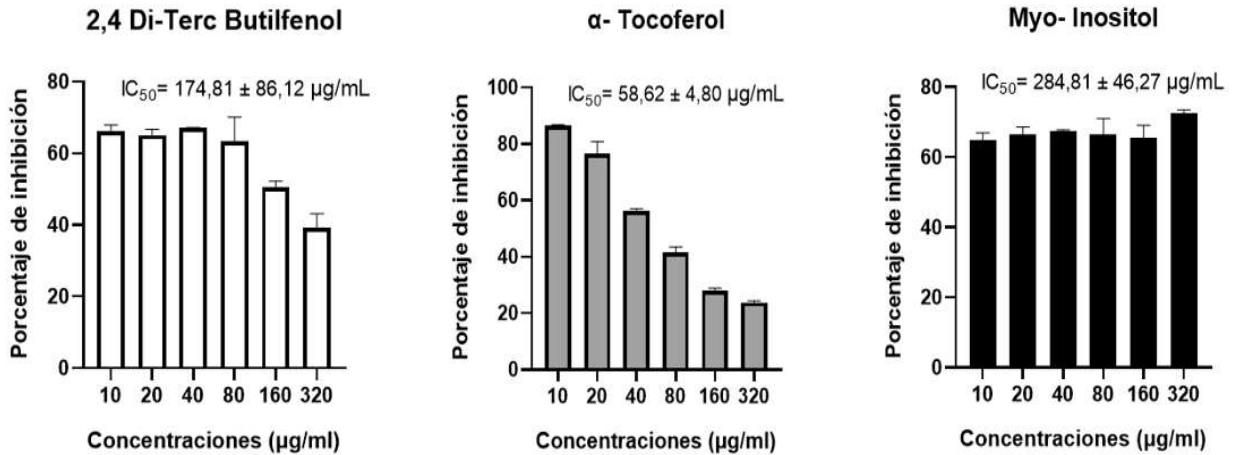
En la Figura 20 se comparan las concentraciones necesarias de cada compuesto para inhibir en un 50% de la actividad enzimática de la elastasa. Puede apreciarse que el 2,4 DTBP fue el compuesto que inhibió con mayor intensidad a la enzima, lo que fue concordante con la correlación de Spearman descrita anteriormente que demuestra el impacto de los fenoles en la inhibición de esta enzima.



**Figura 19.** Comparación de las concentraciones inhibitorias medias ( $IC_{50}$ ) de los compuestos mayoritarios del QSAE para inhibir la enzima elastasa. El gráfico representa el promedio  $\pm$  desviación estándar. Letras distintas sobre las columnas indican diferencias estadísticamente significativas (\*\*\*\*  $p < 0.0001$ )

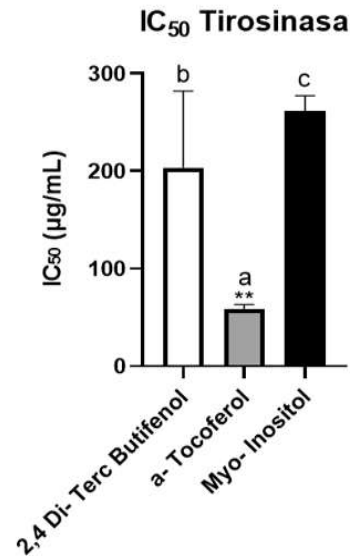
### 7.6.2 Determinación de la capacidad anti-tirosinasa

La **Figura 20** ilustra los porcentajes de inhibición de la enzima tirosinasa provocados por los compuestos mayoritarios a las diferentes concentraciones.



**Figura 20.** Porcentaje de inhibición de la enzima tirosinasa correspondiente a las concentraciones de los compuestos e  $IC_{50} \pm$  desviación estándar

La **Figura 21**, por su parte, muestra la comparación de las concentraciones necesarias de cada compuesto mayoritario para inhibir en un 50% ( $IC_{50}$ ) la actividad in vitro de la enzima tirosinasa. Puede apreciarse que el  $\alpha$ -tocoferol fue el compuesto que inhibió con mayor intensidad a esta enzima, mientras que el 2,4 DTBP, y el myo-inositol presentaron menor inhibición sobre la enzima.



**Figura 211.** Comparación de las concentraciones inhibitorias medias de los compuestos mayoritarios del QSAE para inhibir la enzima tirosinasa. El gráfico representa el promedio  $\pm$  desviación estándar. Letras distintas sobre las columnas indican diferencias estadísticamente significativas (\*\*  $p < 0.01$ )

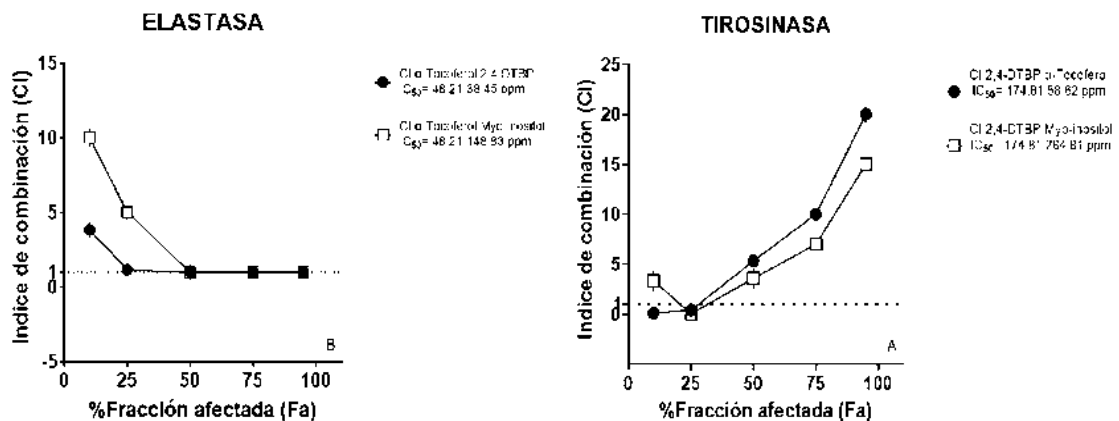
### 7.7 Análisis *in silico* de las interacciones de los compuestos mayoritarios sobre la actividad de las enzimas tirosinasa y elastasa.

La **Figura 22** muestra las predicciones de las interacciones binarias de los compuestos mayoritarios para inhibir las enzimas tirosinasa y elastasa, involucradas en el envejecimiento cutáneo. Puede apreciarse que estas interacciones dependerían de las concentraciones empleadas y del tipo de enzima inhibida. Puede apreciarse que la mezcla del 2,4 DTBP +  $\alpha$ -tocoferol, a concentraciones inferiores a una Fa del 25% (2,4 DTBP 5184.23  $\mu$ g/ml +  $\alpha$ -tocoferol 2.98  $\mu$ g/ml) generaría un efecto sinérgico sobre la tirosinasa, lo que predeciría un incremento significativo de la inhibición de la enzima muy superior al de ambos compuestos por separado. Sin embargo, al mezclar estos compuestos a una Fa del 25% o superior el efecto se tornaría antagónico, anulando o disminuyendo drásticamente los efectos inhibitorios sobre la enzima. Al contrario de la interacción binaria entre el 2,4DTBP y el  $\alpha$ -tocoferol, en la mezcla del 2,4DBTP y el myo-inositol se muestra antagonismo sobre la tirosinasa a bajas

concentraciones por debajo del 25% (2,4 DTBP 5184.23  $\mu\text{g/ml}$  + myo-inositol 80.63  $\mu\text{g/ml}$ ), sinergia al 25% y antagonismo a concentraciones superiores.

Tal y como se esperaba, la inhibición de las mezclas binarias sobre la elastasa muestra un comportamiento diferente, ya que en el caso de la combinación de 2,4 DTBP +  $\alpha$ -tocoferol, cuando esta se emplee a concentraciones inferiores que el 25% (2,4 DTBP 0.04  $\mu\text{g/ml}$  +  $\alpha$ -tocoferol 0.0073  $\mu\text{g/ml}$ ) se anticiparían efectos antagónicos, mientras que en concentraciones del 25% o superiores se esperarían interacciones aditivas sobre la inhibición de la enzima.

En contraste, la mezcla binaria del  $\alpha$ -tocoferol + myo-inositol, presentaría efectos antagónicos sobre la actividad de la elastasa cuando ambos compuestos se mezclen con un Fa inferior al 50% ( $\alpha$ -tocoferol 0.0073  $\mu\text{g/ml}$  + myo-inositol 1.9<sup>-17</sup>  $\mu\text{g/ml}$ ). Sin embargo, en concentraciones iguales o superiores a estos valores, se predicen efectos aditivos sobre la inhibición de la enzima.



**Figura 22.** Fracción afectada (Fa) vs. Índice de Combinación (CI) de la interacción de 2,4- di-terc butilfenol (2,4-DTBP),  $\alpha$ -tocoferol y myo-inositol en la inhibición de la actividad enzimática de: A) Tirosinasa y B) Elastasa.

## 8. DISCUSIÓN

En México, existe una extensa tradición en cuanto al uso de cortezas de árboles con fines medicinales, siendo las de especies pertenecientes al género *Quercus* las más utilizadas por la población para tales fines (80). Esta preferencia podría relacionarse con la gran distribución de encinos en el país. Se estima que de las 161 especies del género *Quercus* en México, 109 especies son endémicas, incluyendo *Q. scytophylla* (6). A pesar de la diversidad de encinos mexicanos utilizados por la medicina tradicional, estos han sido pobremente estudiados desde el punto de vista farmacológico en comparación con especies europeas. Por lo tanto, es necesario realizar un análisis más detallado de su relevancia medicinal con fundamentos científicos.

Dentro de los usos etnomédicos de los encinos en México se incluye el empleo de decocciones de cortezas para tratar afecciones dermatológicas, incluyendo quemaduras, infecciones, y heridas (5). Lo anterior sugiere un potencial farmacológico de los extractos de encinos para el desarrollo de nuevas formulaciones tópicas, incluyendo cosmecéuticos con acción antiedad.

El término cosmecéutico se refiere a una categoría de productos en la intersección entre los cosméticos y los fármacos, cuyos efectos van más allá del embellecimiento de la piel, ya que pueden impactar sobre vías de señalización, enzimas y mediadores relacionados con la apariencia cutánea (81).

Desafortunadamente, la reciente explosión y el rápido crecimiento del mercado de cosmecéuticos con acción antiedad ha generado confusiones en los consumidores, que, a menudo, reciben información no regulada y afirmaciones sobre la eficacia de productos, sin que esta haya sido comprobada científicamente (81). En consecuencia, se ha enfatizado, acerca de la importancia estudiar con mayor profundidad los mecanismos de acción de los cosmecéuticos. Esto incluye evaluar el efecto de los productos anti-edad en procesos relacionados con el envejecimiento, como el estrés oxidativo y la activación enzimática.

El desarrollo de productos anti-edad a partir de las cortezas de *Q. scytophylla*, subutilizadas en la explotación forestal, podría extender los mercados de la industria forestal y fomentar el desarrollo sustentable mediante el aprovechamiento de residuos, contribuyendo así a la economía circular.

Los resultados de la presente investigación muestran rendimientos de extracción superiores a los reportados previamente para el extracto acuoso de cortezas de *Q. scytophylla* por el mismo método de extracción (7), lo que se atribuyó a la procedencia distinta de ambas especies. La exposición a factores externos a los que ha podido estar expuesta la planta, como la altura podría impactar en el contenido de metabolitos polares, y por consiguiente en el rendimiento de extracción. En nuestro caso la especie se localizó a los (2400 m.s.n.m.) aproximadamente, altura óptima en la que de manera natural la podemos encontrar. En entornos montañosos, el gradiente altitudinal se asocia con una amplia variación en las condiciones ambientales, pudiendo afectar la distribución y la estructura poblacional de las plantas, impactando en su dinámica de crecimiento y en la producción de metabolitos bioactivos (82).

Se realizó la evaluación de la composición polifenólica del QSAE, misma que se comparó con la obtenida por el extracto comercial Oligopin<sup>®</sup> bajo las mismas condiciones y se determinó que los resultados de fenoles totales y proantocianidinas fueron estadísticamente superiores en el Oligopin<sup>®</sup> ( $p < 0.05$ ). Sin embargo, el contenido de ácidos hidroxicinámicos fue estadísticamente superior en el QSAE en 40,24 %, mientras que en flavonoides totales no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los extractos. Previamente se reportaron valores superiores de fenoles y flavonoides totales  $329,46 \pm 37,41$  (mgEAG/g) y  $24,08 \pm 0,47$  (mgEQ/g) respectivamente para el extracto de *Q. scytophylla* colectado en Ciudad Hidalgo, Michoacán (7). Sin embargo, el contenido de ácidos hidroxicinámicos totales del QSAE fue superior, mientras que las proantocianidinas totales mostraron resultados similares. Previamente se han reportado valores de fenoles totales de  $253.7 \pm 26$  y  $185.3 \pm 40.2$  (mgEAG/g) en extractos de *Quercus rotundifolia* procedente de dos sitios diferentes, utilizando el método de extracción al agua caliente mediante reflujo (83).

Recientemente se realizó un estudio que involucró a *Quercus pubescens* y *Quercus petraea* con la finalidad de hacer una caracterización del perfil fitoquímico de los extractos de cortezas de estas dos especies (84). El extracto de la corteza de *Quercus petraea* tuvo un contenido fenólico de entre 300 y 350 mgEAG/g, valores relativamente mayores a los determinados para el *Quercus scytophylla* mediante extracción con agua caliente a reflujo constante. También fue superior a los reportados por los autores para el *Quercus pubescens*, situados entre los 90 y 200

mgEAG/g. Estos resultados sugieren diferencias en el contenido de fenoles de acuerdo con la especie de encino estudiada y su procedencia.

El análisis cromatográfico realizado permitió la identificación de 51 compuestos. Todos los compuestos se agruparon según su clasificación química y se les determinó los porcentajes que figuraban en cada clase, además, del porcentaje que cada clase representaba con respecto al área cromatográfica total. Se identificaron a los terpenoides como las moléculas volátiles mayoritarias en el extracto con un 30,27 %, seguido de los fitoesteroles con el 17,69 %, los esteroides con el 16,87 % y los fenoles con el 8,77 %. Los compuestos mayoritarios estuvieron representados por el lupan-3-ol (RT=51.8 min); 9,19-cyclolanostane-3,7-diol (RT=51.4 min);  $\beta$ -sistosterol (RT=50.9 min);  $\alpha$ -tocoferol (RT=48.8 min), 6-octadecenoic acid (RT=31,1 min) y 2,4 di-terc butilfenol (RT=17.8 min). Un compuesto mayoritario identificado en el extracto derivatizado de *Q. scytophylla* correspondió al myo-inositol, molécula que pertenece a la familia de los ciclitoles, compuestos característicos en extractos de especies pertenecientes al género *Quercus* (78,79).

Entre los compuestos mayoritarios identificados en el extracto puro se encuentra el  $\beta$ -sitosterol, molécula que abarcó la mayor área en el cromatograma, un compuesto químico común en plantas y que a menudo se utiliza como suplemento alimenticio. Es reconocido como un fitoesterol o un esteroles vegetal con una estructura similar a la del colesterol. Algunas entidades de la salud definen este compuesto como una sustancia que con regularidad se encuentra en algunos frutos secos, así como frijoles, semillas, frutas y varios vegetales, también se usa en suplemento alimenticio. A este metabolito secundario cuando se absorbe en los alimentos en cantidades idóneas se le atribuye la capacidad de reducir el colesterol en la sangre (85). Aún se sigue estudiando su posible potencial como agente reductor y destructor de algunas células cancerígenas (86,87). La alta concentración de  $\beta$ -sitosterol en el extracto de *Quercus scytophylla* coincide con una investigación previa empleando aceites de bellota de *Q. aegilops*, *Q. infectoria*, *Q. calliprinos*, *Q. faginea* y *Q. suber*. En todas ellas, el  $\beta$ -sitosterol se consideró como el esteroles más abundante (Al-Rousan *et al.*, 2013).

La identificación de compuestos en el QSAE coincide con una investigación previa que identificó la presencia de esteroides metílicos, alcoholes triterpénicos y alifáticos, tocoferoles e hidrocarburos en *Quercus ilex* L., *Quercus suber* L. y *Quercus faginea* L (89). Los autores

reportan altas concentraciones de  $\beta$ -sitosterol entre los esteroides, de  $\gamma$ -tocoferol y de 9,19-cyclolanostane-3,7-diol, un triterpenoide tetracíclico perteneciente a la clase de los lanostanos (89).

Otros de los compuestos mayoritarios identificados en nuestro estudio fueron el lupan-3-ol, un triterpeno pentacíclico perteneciente a la familia de los lupanos, compuestos naturales que se encuentran en plantas como *Nigella sativa* (90). Además, en el extracto de *Q. scytophylla* se identificaron el 2,4-di-terc-butylphenol y el  $\alpha$ -tocoferol. El primero es un fenol que por su estructura pudiera actuar como un captador de radicales libres, implicados en el envejecimiento.

Previamente se determinó el efecto protector de un extracto de camote (*Ipomoea batatas*) contra el estrés oxidativo inducido por el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) y la citotoxicidad en la línea celular de feocromocitoma (PC12). La purificación del componente activo del extracto arrojó la presencia significativa del 2,4-DTBP, al que se le midió la capacidad antioxidante a través del uso del radical 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolona-6-sulfónico (ABTS). Además, se examinó el efecto del 2,4DTBP sobre el péptido beta-amiloide ( $A\beta_{1-42}$ ), utilizado para inducir el deterioro del aprendizaje y la memoria de los ratones y se realizaron pruebas conductuales *in vivo*. La administración de 2,4-DTBP incrementó la alternancia de los ratones inyectados con  $A\beta_{1-42}$ , este resultado sugiere que el extracto de camote podría figurar como un agente protector contra la neurotoxicidad inducida por  $A\beta$  debido a la capacidad antioxidante del el 2,4DTBP (91) .

Por su parte el  $\alpha$ -tocoferol, también conocido como vitamina E es un reconocido antioxidante, aunque también incide sobre la proliferación celular y la inmunomodulación (92). La principal función del  $\alpha$ -tocoferol es la de antioxidante natural mediante su capacidad de neutralizar a los radicales libres solubles en los lípidos de las membranas, donde desempeña una función relacionada con el ordenamiento de las membranas lipídicas y la estabilización estructural de las mismas (93).

En este trabajo se determinó la concentración efectiva tanto del Oligopin<sup>®</sup> como del QSAE para capturar al menos el 25 % ( $EC_{25}$ ) del radical hidroxilo ( $OH\bullet$ ). Este radical es el más reactivo y dañino de los radicales libres que pueden afectar los sistemas biológicos. Su alta reactividad le confiere la capacidad de interactuar con casi todas las moléculas cercanas a su sitio de formación, por lo que se deduce que el daño celular que puede acarrear su formación es extenso

e irreversible (94). Los resultados mostraron que el QSAE fue 5 veces más efectivo para captar a este radical que el Oligopin<sup>®</sup>, dadas las diferencias encontradas en cuanto a la concentración necesaria para captar el 25 % del radical hidroxilo (51,52 µg/mL vs. 263,79 µg/mL, respectivamente).

En aras de correlacionar la actividad para captar al radical OH con el contenido de diferentes clases de fenoles presentes en el QSAE, se realizó la correlación de Spearman. Desafortunadamente, la capacidad del extracto de *Q. scytophylla* para captar al radical hidroxilo no pudo asociarse ni con el contenido en fenoles totales ( $Rho=0,00$ ;  $p=1,000$ ), ni de proantocianidinas ( $Rho=0,00$ ;  $p=0,33$ ), ácidos hidroxicinámicos ( $Rho=0,87$ ;  $p=0,33$ ) o flavonoides ( $Rho=0,86$ ;  $p=1,00$ ). Estos resultados sugieren que otras moléculas no determinadas, como lignanos, estilbenos o bien terpenoides identificados como moléculas mayoritarias en el QSAE de acuerdo con el análisis cromatográfico, pudieran estar involucradas en la capacidad de captación del radical OH.

Mediante el ensayo anti-enzimático se determinó la capacidad del QSAE para inhibir la actividad de esta enzima elastasa, involucrada en la degradación de la matriz extracelular dérmica, cuya activación provoca la degradación de las fibras de elastina, generando arrugas visibles durante el envejecimiento. El QSAE mostró un efecto 6 y 5 veces superior al Oligopin<sup>®</sup> y la EGCG, respectivamente ( $IC_{50} = 19,78 \mu\text{g/mL}$  vs.  $132,10 \mu\text{g/mL}$  vs.  $108,87 \mu\text{g/mL}$ ). Además, su acción inhibitoria sobre la elastasa fue superior a la mostrada por otros extractos inhibidores de la enzima tales como *Hypericum calycinum* ( $IC_{50} = 55,77 \mu\text{g/mL}$ ); *Hypericum perforatum* ( $IC_{50} = 64,76 \mu\text{g/mL}$ ) e *Hypericum confertum* ( $IC_{50} = 61,67 \mu\text{g/mL}$ ) (73). Este resultado nos lleva a considerar que el QSAE pudiera figurar como un prometedor y novedoso inhibidor de la enzima elastasa.

La inhibición de la elastasa se asoció fuertemente, según la correlación de Spearman, con la presencia de flavonoides y ácidos hidroxicinámicos en el QSAE ( $p<0.01$ ). Estos resultados son concordantes con una investigación previa que demostró que flavonoides como la hesperidina, la naringina, la nobiletina y la tangeretina poseen un elevado potencial como inhibidores de la elastasa comparativamente a la EGCG (95), utilizado como un inhibidor de referencia.

En aras de identificar con mayor precisión los metabolitos involucrados en la actividad anti-elastasa, pudo constatar que el compuesto que provocó la mayor inhibición sobre la enzima fue el de naturaleza fenólica, notablemente el 2,4DTBP ( $IC_{50}=38,45 \mu\text{g/mL}$ ), seguido del  $\alpha$ -tocoferol ( $IC_{50}=48,21 \mu\text{g/mL}$ ) y finalmente el myo-inositol ( $IC_{50}=148,83 \mu\text{g/mL}$ ). Sin embargo, a pesar del mejor efecto encontrado para el 2,4 DTBP, su capacidad para inhibir la enzima fue inferior del QSAE, quien presentó casi dos veces más actividad inhibitoria sobre la elastasa ( $IC_{50}=19.78 \mu\text{g/ml}$ ). Esto sugiere que si bien, el 2,4 DTBP participa en los efectos inhibitorios del QSAE, otros metabolitos no identificados, probablemente flavonoides y ácidos hidroxicinámicos (dada la fuerte correlación de Spearman encontrada) en combinación con el 2,4 DTBP pudieran ser los responsables de los efectos anti-elastasa elevados determinados para el QSAE.

Se ha demostrado que las interacciones entre inhibidores de la elastasa y el centro activo de la enzima están dominadas por enlaces de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas, particularmente con los aminoácidos His57, Leu99, Val190, Cys191, Phe192, Asp194, Ser195, Ala213, Ser214, Phe215, y Val216. Dada la naturaleza fenólica del 2,4 DTBP, es posible anticipar que estas interacciones por enlaces de hidrógeno puedan ocurrir con el centro activo de la enzima y relacionarse con su capacidad de inhibir a la elastasa. Aunque las propiedades antioxidantes, antifúngicas y antiinflamatorias del 2,4 DTBP se han demostrado previamente (96), este compuesto no ha sido previamente identificado como un inhibidor de la elastasa.

Considerando que, el 2,4 DTBP se presenta en el extracto de *Q. scytophylla* en conjunción con otras moléculas como el  $\alpha$ -tocoferol y el myo-inositol, se evaluó el impacto de sus combinaciones sobre la actividad de la elastasa *in silico*. Con este análisis se determinaron las interacciones de los compuestos mayoritarios. Para ello se utilizó el modelo cuantitativo de interacción (75,76), el cual permite analizar con precisión mediante el cálculo del índice de combinación (CI) en función de la fracción afectada (Fa) la forma en la que los compuestos actúan sobre las enzimas al combinarse. Los efectos resultantes esperados pueden describir acciones sinérgicas ( $CI<1$ ), lo que implica un incremento significativo de la capacidad inhibitoria enzimática y en consecuencia una disminución drástica de la  $IC_{50}$ . Además, el modelo predice interacciones aditivas ( $CI=1$ ) donde el efecto es igual a la suma de los efectos

individuales y antagónicas  $CI > 1$ , donde se obtendría un efecto inhibitorio significativamente menor al esperado sobre las enzimas, y en consecuencia un incremento de la  $IC_{50}$ .

Durante el análisis *in silico* se predice el efecto combinado considerando la suma de los efectos individuales, lo cual es ventajoso en sistemas biológicos complejos como el caso de la piel donde los compuestos interaccionarían entre ellos y con moléculas propias del microambiente cutáneo (75,76). Además, el análisis de las interacciones ayuda en la formulación de productos cosmecéuticos con varios principios activos para alcanzar el nivel de inhibición deseado, empleando las concentraciones adecuadas, minimizando el riesgo de irritación o toxicidad tópica y mejorando la aceptabilidad.

Pudo evidenciarse que la combinación de 2,4 DTBP +  $\alpha$ -tocoferol, en concentraciones inferiores al 25% de la Fa generaría efectos antagónicos, mientras que en concentraciones del 25% o superiores podrían generar interacciones aditivas sobre la inhibición de la enzima. Esto sugiere que, si ambos compuestos se incorporan en productos cosmecéuticos, deberían superarse las concentraciones 0.04  $\mu\text{g/ml}$  para el 2,4 DTBP + 0.0073  $\mu\text{g/ml}$  para el  $\alpha$ -tocoferol. La mezcla de  $\alpha$ -tocoferol y myo-inositol posee efectos antagónicos sobre la elastasa cuando sus concentraciones son menores al 50% de la Fa ( $\alpha$ -tocoferol 0.0073  $\mu\text{g/ml}$  + myo-inositol  $1.9 \cdot 10^{-17}$   $\mu\text{g/ml}$ ). Por el contrario, en concentraciones iguales o superiores, se espera que tengan efectos aditivos en la inhibición de la enzima.

El análisis *in silico* muestra que el mejor efecto de las combinaciones de los compuestos mayoritarios sobre la actividad de la elastasa sería aditivo. En consecuencia, analizando los valores experimentales de la  $IC_{50}$  de los compuestos mayoritarios se consideraría que el uso de combinaciones del 2,4 DTBP con el  $\alpha$ -tocopherol, estaría favorecido en la formulación de cosmecéuticos sobre el uso del  $\alpha$ -tocoferol y myo-inositol, ya que el myo-inositol presenta muy baja actividad experimentalmente frente a la elastasa.

La tirosinasa es una enzima cuya activación se ha conectado con la formación de manchas en la piel, mismas que se exacerban con la edad. El QSAE ( $IC_{50} = 214,10 \pm 1,47 \mu\text{g/mL}$ ) mostró un efecto inhibitorio sobre la enzima similar al Oligopin® ( $IC_{50} = 204,68 \pm 1,24 \mu\text{g/mL}$ ) e inferior al ácido kójico ( $IC_{50} = 45,18 \pm 0,52 \mu\text{g/mL}$ ). El ácido kójico se ha empleado ampliamente como un inhibidor de referencia de la tirosinasa, dada su capacidad para quelar al

cobre en el sitio activo de la enzima por lo que compite con los sustratos de la enzima en su calidad de inhibidor competitivo, de ahí su uso en la formulación de agentes hipopigmentantes (97).

Considerando que los estándares de referencia mayormente son compuestos bien caracterizados como hipopigmentantes como el ácido kójico se decidió hacer uso de la actividad inhibitoria relativa (RA). Esta se define como el cociente entre la  $IC_{50}$  del inhibidor de referencia y la del inhibidor que se investiga, permitiendo llegar a conclusiones pragmáticas para comparar los resultados con independencia del método utilizado (98). Cuando  $RA > 1$ , se considera que el inhibidor que se estudia tiene mayor potencia para bloquear la actividad de la enzima que el inhibidor estándar de referencia. Esto se puede asociar con una mayor afinidad por el sitio activo de la enzima, una interacción más efectiva con la diana o mecanismos de acción mucho más eficaces. Por tanto, a partir de los valores de  $IC_{50}$  para la enzima tirosinasa con el QSAE ( $IC_{50} = 214,10 \pm 1,47 \mu\text{g/mL}$ ) y para el ácido kójico ( $IC_{50} = 45,18 \pm 0,52 \mu\text{g/mL}$ ), se obtiene un  $RA = 0,2$ .

Previamente se ha probado la capacidad inhibitoria del extracto de la corteza del *Quercus coccifera*, una especie nativa del Mediterráneo, donde se reporta una  $IC_{50} = 75.13 \pm 0.44 \mu\text{g/mL}$  para inhibir la tirosinasa, demostrando un efecto superior como inhibidor de la enzima comparativamente al QSAE (99). Las diferencias en cuanto a la actividad podrían relacionarse con diferencias de su origen y composición química.

La inhibición de la tirosinasa no pudo asociarse, según la correlación de Spearman, con la presencia de fenoles, flavonoides, ácidos hidroxicinámicos y/o proantocianidinas en el QSAE ( $p > 0.05$ ), indicando claramente que estos grupos de fenoles no estarían impactando representativamente en esta actividad. Aunque investigaciones previas han demostrado que ciertos fenoles pueden inhibir individualmente a la tirosinasa, cuando se usan combinados, su efecto global sobre la enzima puede variar. Es el caso de la quercetina, la isorhamnetina y el ácido gálico, los que inhiben fuertemente la actividad de la tirosinasa. En contraste, el ácido 4-hidroxicinámico es un inhibidor débil de la tirosinasa, y el ácido ferúlico un activador débil. Por consiguiente, la combinación entre ellos puede poseer efectos variables sobre la enzima (100) en dependencia de su concentración relativa. La determinación de fenoles totales, flavonoides, ácidos hidroxicinámicos y proantocianidinas engloba grupos de estas moléculas

que pudieran en su conjunto no impactar significativamente en la actividad de la tirosinasa, explicando la falta de correlaciones.

Con la finalidad de probar si la capacidad inhibitoria del QSAE estaba relacionada con la acción de algunos de sus compuestos mayoritarios, se decidió determinar la concentración necesaria para reducir la actividad enzimática de la tirosinasa en un 50%. Los resultados obtenidos fueron comparados con los del estándar positivo ácido kójico, por considerarse el de mayor efectividad como hipopigmentante (101). En consecuencia, para los compuestos analizados 2,4DTBP,  $\alpha$ -tocoferol y myo-inositol se obtuvieron los valores de  $IC_{50}$  de  $174,81 \pm 2,32 \mu\text{g/mL}$ ,  $58,62 \pm 0,55 \mu\text{g/mL}$  y  $284 \pm 1,70 \mu\text{g/mL}$  respectivamente. El compuesto con mayores efectos inhibitorios sobre la tirosinasa fue el  $\alpha$ -tocoferol, mismo que presentó una capacidad inhibitoria inferior a la del ácido kójico ( $IC_{50} = 45,18 \pm 0,52 \mu\text{g/mL}$ ), pero casi 4 veces superior a la del QSAE ( $IC_{50} = 214,10 \pm 1,47 \mu\text{g/mL}$ ). Esto sugiere que el QSAE contiene metabolitos que antagonizan la acción del  $\alpha$ -tocopherol, mismos que deben ser identificados en investigaciones ulteriores y eliminados por métodos de fraccionamiento si se desea incrementar el efecto hipopigmentante del extracto.

La inhibición de la tirosinasa por la Vitamina E y compuestos relacionados ha sido ampliamente reportada en la literatura (102–104). La capacidad de la vitamina E de inhibir la tirosinasa se ha conectado mayoritariamente con sus interacciones hidrofóbicas con los aminoácidos HIS215, PHE362, TYR369, HIS381 y LEU382 en el centro activo de la enzima (105). Formas naturales de vitamina E ( $\gamma$ -Tocotrienol y  $\delta$ -Tocotrienol) son capaces de suprimir la expresión de la tirosinasa en células de melanoma (B16) después de la exposición a la radiación UVB. Se estima que los tocotrienoles ( $\gamma$ ) y ( $\delta$ ) podrían ser utilizados en formulaciones cosmecéuticas para tratar la hiperpigmentación cutánea, particularmente la inducida por la exposición a la radiación UV (106).

Dado que el  $\alpha$ -tocoferol presenta los efectos más prometedores a nivel experimental sobre la inhibición de la tirosinasa, el análisis *in silico* permite anticipar que su uso en combinación con el 2,4 DTBP a concentraciones inferiores al Fa del 25% podría ser beneficioso para generar un efecto sinérgico sobre la tirosinasa. Sin embargo, deben tomarse precauciones al mezclar estos compuestos a una Fa del 25% o superior ya que el efecto se tornaría antagonístico de acuerdo con las predicciones del estudio de interacciones *in silico*.

Hasta el momento no se han encontrado estudios que hayan estudiado los efectos de la combinación del 2,4- DTBP,  $\alpha$ -tocoferol y le myo-inositol para inhibir la actividad de la tirosinasa y elastasa. Sin embargo, los resultados del estudio *in silico* sugieren que, investigaciones futuras, deben realizarse para evaluar más exhaustivamente el impacto de estas combinaciones en el desarrollo de cosmeceúticos anti-edad.

## 9. CONCLUSIONES

En conjunto los resultados de la presente investigación muestran un potencial del extracto acuoso de cortezas de *Q. scytophylla*, para contrarrestar los signos de la edad, enfatizando en su valor para el desarrollo de nuevos cosmecéuticos. El QSAE demostró ser rico en ácidos hidroxicinámicos, terpenoides y fitoesteroles.

Particularmente debe resaltarse su capacidad para captar al radical hidroxilo, superior a la del extracto comercial Oligopin®. Además, pudo constatar que el QSAE presenta una mejor capacidad para bloquear a la elastasa que a la tirosinasa, lo que sugiere un débil efecto hipopigmentante combinado a una capacidad significativa para mejorar la elasticidad de la piel durante el envejecimiento. El elevado efecto inhibitorio del QSAE sobre la elastasa, muy superior al encontrado para la epigalocatequina galato, lo posiciona como un agente prometedor a ser investigado más exhaustivamente en estudios posteriores.

Los compuestos mayoritarios evaluados presentaron capacidad inhibitoria diferente sobre actividad de ambas enzimas, lo que confirma su contribución individual a la bioactividad global del QSAE. El 2,4DTBP fue identificado como el compuesto mayoritariamente involucrado en el efecto anti-elastasa, mientras que el  $\alpha$ -tocoferol estuvo mayoritariamente implicado en la actividad anti-tirosinasa.

El análisis *in silico* mostró que los efectos individuales de los metabolitos mayoritarios podrían mejorarse significativamente sobre todo para el caso de la actividad anti-tirosinasa, donde podrían pronosticarse efectos sinérgicos durante el empleo de combinaciones entre el  $\alpha$ -tocoferol y el 2,4 DTBP, a bajas concentraciones. La sinergia observada facilita la predicción de la eficacia de la formulación y abre la posibilidad de optimizar las concentraciones de los componentes para maximizar los beneficios y minimizar los posibles efectos adversos.

## REFERENCIAS

1. Bouras M, Chadni M, Barba FJ, Grimi N, Bals O, Vorobiev E. Optimización de la extracción asistida por microondas de polifenoles de la corteza de *Quercus*. Ind Crops Prod [Internet]. el 23 de diciembre de 2015 [citado el 9 de mayo de 2025];77:590–601. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669015303836>
2. Şöhretoğlu D, Renda G. The polyphenolic profile of Oak (*Quercus*) species: a phytochemical and pharmacological overview. Phytochem Rev [Internet]. el 1 de diciembre de 2020 [citado el 9 de mayo de 2025];19(6):1379–426. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s11101-020-09707-3>
3. Bahmani M, Fazeli-Moghadam E, Rafieian-Kopaei M, Adineh A. Oak (*Quercus branti*): an overview. J Chem Pharm Res. 2015;7(1):634–9.
4. Esquivel-García R, Velázquez-Hernández ME, Valentín-Escalera J, Valencia-Avilés E, Raimundo VA, García-Pérez ME. Flavonoides del género *Quercus*: Aplicaciones en melasma y psoriasis. En: Química de los lignocelulósicos. CRC Press; 2017.
5. Luna-José ADL, Montalvo-Espinosa L, Rendón-Aguilar B. Los usos no leñosos de los encinos en México. Bot Sci [Internet]. el 15 de junio de 2003 [citado el 15 de julio de 2023];(72):107–17. Disponible en: <https://www.botanicalsciences.com.mx/index.php/botanicalSciences/article/view/1671>
6. Valencia-A S. Diversidad del género *Quercus* (Fagaceae) en México. Bot Sci [Internet]. el 15 de diciembre de 2004 [citado el 9 de mayo de 2025];(75):33–53. Disponible en: <https://www.botanicalsciences.com.mx/index.php/botanicalSciences/article/view/1692>
7. Valencia-Avilés E, García-Pérez M, Garnica-Romo Ma, Figueroa-Cárdenas J, Meléndez-Herrera E, Salgado-Garciglia R, et al. Antioxidant Properties of Polyphenolic Extracts from *Quercus Laurina*, *Quercus Crassifolia*, and *Quercus Scytophylla* Bark. Antioxidants [Internet]. el 26 de junio de 2018 [citado el 14 de julio de 2023];7(7):81. Disponible en: <http://www.mdpi.com/2076-3921/7/7/81>

8. Krutmann J, Bouloc A, Sore G, Bernard BA, Passeron T. The skin aging exposome. *J Dermatol Sci* [Internet]. el 1 de marzo de 2017 [citado el 30 de abril de 2025];85(3):152–61. Disponible en: [https://www.jdsjournal.com/article/S0923-1811\(16\)30816-7/fulltext](https://www.jdsjournal.com/article/S0923-1811(16)30816-7/fulltext)
9. Kohl E, Steinbauer J, Landthaler M, Szeimies RM. Skin ageing. *J Eur Acad Dermatol Venereol* [Internet]. 2011 [citado el 16 de marzo de 2025];25(8):873–84. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1468-3083.2010.03963.x>
10. Rabe JH, Mamelak AJ, McElgunn PJS, Morison WL, Sauder DN. Photoaging: mechanisms and repair. *J Am Acad Dermatol*. julio de 2006;55(1):1–19.
11. Huang J, Heng S, Zhang W, Liu Y, Xia T, Ji C, et al. Dermal extracellular matrix molecules in skin development, homeostasis, wound regeneration and diseases. *Semin Cell Dev Biol* [Internet]. el 1 de agosto de 2022 [citado el 9 de mayo de 2025];128:137–44. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1084952122000647>
12. Rittié L, Fisher GJ. UV-light-induced signal cascades and skin aging. *Ageing Res Rev* [Internet]. el 1 de septiembre de 2002 [citado el 24 de abril de 2025];1(4):705–20. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1568163702000247>
13. Alves R, Castro Esteves T, Trelles MA. Factores intrínsecos y extrínsecos implicados en el envejecimiento cutáneo. *Cir Plástica Ibero-Latinoam* [Internet]. marzo de 2013 [citado el 24 de abril de 2025];39(1):89–102. Disponible en: [https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S0376-78922013000100013&lng=es&nrm=iso&tlng=es](https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0376-78922013000100013&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
14. Gromkowska-Kępa KJ, Puścion-Jakubik A, Markiewicz-Żukowska R, Socha K. The impact of ultraviolet radiation on skin photoaging — review of in vitro studies. *J Cosmet Dermatol* [Internet]. noviembre de 2021 [citado el 24 de abril de 2025];20(11):3427–31. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8597149/>

15. Lozada SM, Rueda R. Envejecimiento cutáneo. *Rev Asoc Colomb Dermatol Cir Dermatológica* [Internet]. 2010 [citado el 14 de marzo de 2025];18(1):10–7. Disponible en: <https://revista.asocolderma.org.co/index.php/asocolderma/article/view/185>
16. Pineda ZMR, Rivera I, Ollarves V, Lugo DA, Hagel I. Aspectos moleculares del envejecimiento cutáneo. *Dermatol Venez* [Internet]. 2021 [citado el 24 de abril de 2025];59(2). Disponible en: [http://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev\\_rdv/article/view/27904](http://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev_rdv/article/view/27904)
17. Pourang A, Tisack A, Ezekwe N, Torres AE, Kohli I, Hamzavi IH, et al. Effects of visible light on mechanisms of skin photoaging. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* [Internet]. 2022 [citado el 14 de marzo de 2025];38(3):191–6. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/phpp.12736>
18. Poljšak B, Dahmane RG, Godić A. Intrinsic skin aging: the role of oxidative stress. *Acta Dermatovenerol Alp Pannonica Adriat*. 2012;21(2):33–6.
19. Poljšak B, Dahmane R. Free Radicals and Extrinsic Skin Aging. *Dermatol Res Pract* [Internet]. 2012 [citado el 9 de mayo de 2025];2012(1):135206. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1155/2012/135206>
20. Asadi-Samani M, Farkhad NK, Mahmoudian-Sani MR, Shirzad H, Asadi-Samani M, Farkhad NK, et al. Antioxidants as a Double-Edged Sword in the Treatment of Cancer. En: *Antioxidants* [Internet]. IntechOpen; 2019 [citado el 24 de abril de 2025]. Disponible en: <https://www.intechopen.com/chapters/66504>
21. Flores EMR. Especies reactivas de oxígeno, importancia e implicación patológica. *Rev Científica Cienc Médica* [Internet]. 2021 [citado el 24 de abril de 2025];24(2):125–32. Disponible en: [https://www.redalyc.org/journal/4260/426070530008/#redalyc\\_426070530008\\_ref3](https://www.redalyc.org/journal/4260/426070530008/#redalyc_426070530008_ref3)
22. Varani J, Warner RL, Gharaee-Kermani M, Phan SH, Kang S, Chung J, et al. Vitamin A Antagonizes Decreased Cell Growth and Elevated Collagen-Degrading Matrix Metalloproteinases and Stimulates Collagen Accumulation in Naturally Aged Human

- Skin1. *J Invest Dermatol* [Internet]. el 1 de marzo de 2000 [citado el 24 de abril de 2025];114(3):480–6. Disponible en: [https://www.jidonline.org/article/S0022-202X\(15\)40798-5/fulltext](https://www.jidonline.org/article/S0022-202X(15)40798-5/fulltext)
23. Kammeyer A, Luiten RM. Oxidation events and skin aging. *Ageing Res Rev* [Internet]. el 1 de mayo de 2015 [citado el 9 de mayo de 2025];21:16–29. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1568163715000033>
24. Naylor EC, Watson REB, Sherratt MJ. Molecular aspects of skin ageing. *Maturitas*. julio de 2011;69(3):249–56.
25. Wlaschek M, Heinen G, Poswig A, Schwarz A, Krieg T, Scharffetter-Kochanek K. Uva-induced autocrine stimulation of fibroblast-derived collagenase/mmp-1 by interrelated loops of interleukin-1 and interleukin-6. *Photochem Photobiol* [Internet]. 1994 [citado el 24 de abril de 2025];59(5):550–6. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1751-1097.1994.tb02982.x>
26. Szychowski KA, Skóra B. Review of the Relationship between Reactive Oxygen Species (ROS) and Elastin-Derived Peptides (EDPs). *Appl Sci* [Internet]. enero de 2021 [citado el 24 de abril de 2025];11(18):8732. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2076-3417/11/18/8732>
27. Shek N, Choy AM, Lang CC, Miller BE, Tal-Singer R, Bolton CE, et al. Accelerated elastin degradation by age-disease interaction: a common feature in age-related diseases. *Npj Aging* [Internet]. el 27 de febrero de 2024 [citado el 25 de abril de 2025];10(1):1–4. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s41514-024-00143-7>
28. Kawaguchi Y, Tanaka H, Okada T, Konishi H, Takahashi M, Ito M, et al. Effect of Reactive Oxygen Species on the Elastin mRNA Expression in Cultured Human Dermal Fibroblasts. *Free Radic Biol Med* [Internet]. el 1 de enero de 1997 [citado el 9 de mayo de 2025];23(1):162–5. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0891584996005709>

29. Slominski A, Tobin DJ, Shibahara S, Wortsman J. Melanin Pigmentation in Mammalian Skin and Its Hormonal Regulation. *Physiol Rev* [Internet]. octubre de 2004 [citado el 24 de abril de 2025];84(4):1155–228. Disponible en: <https://journals.physiology.org/doi/full/10.1152/physrev.00044.2003>
30. Slominski A, Zmijewski M, Pawelek J. L-tyrosine and L-DOPA as hormone-like regulators of melanocytes functions. *Pigment Cell Melanoma Res* [Internet]. enero de 2012 [citado el 24 de abril de 2025];25(1):14–27. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3242935/>
31. Pillai S, Oresajo C, Hayward J. Ultraviolet radiation and skin aging: roles of reactive oxygen species, inflammation and protease activation, and strategies for prevention of inflammation-induced matrix degradation - a review. *Int J Cosmet Sci*. febrero de 2005;27(1):17–34.
32. Lin CL, Wu MC, Hou CW, Chien, Zhishuai C, Wen, et al. Protective Effects of Sesamin Against UVB-Induced Skin Inflammation and Photodamage In Vitro and In Vivo. *Biomolecules*. el 12 de septiembre de 2019;9:479.
33. Rhie G, Shin MH, Seo JY, Choi WW, Cho KH, Kim KH, et al. Aging- and photoaging-dependent changes of enzymic and nonenzymic antioxidants in the epidermis and dermis of human skin in vivo. *J Invest Dermatol*. noviembre de 2001;117(5):1212–7.
34. Heinz A. Elastases and elastokines: elastin degradation and its significance in health and disease. *Crit Rev Biochem Mol Biol* [Internet]. el 3 de mayo de 2020 [citado el 26 de abril de 2025];55(3):252–73. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/10409238.2020.1768208>
35. Heinz A, Jung MC, Jahreis G, Rusciani A, Duca L, Debelle L, et al. The action of neutrophil serine proteases on elastin and its precursor. *Biochimie* [Internet]. el 1 de enero de 2012 [citado el 26 de abril de 2025];94(1):192–202. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0300908411003853>

36. Robert L, Jacob MP, Frances C, Godeau G, Hornebeck W. Interaction between elastin and elastases and its role in the aging of the arterial wall, skin and other connective tissues. A review. *Mech Ageing Dev* [Internet]. el 1 de diciembre de 1984 [citado el 26 de abril de 2025];28(2):155–66. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0047637484900150>
37. Tobin DJ. Introduction to skin aging. *J Tissue Viability*. febrero de 2017;26(1):37–46.
38. Montaudié H, Bertolotto C, Ballotti R, Passeron T. Fisiología del sistema pigmentario. Melanogénesis. *EMC - Dermatol* [Internet]. el 1 de marzo de 2014 [citado el 26 de abril de 2025];48(1):1–11. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S176128961466800X>
39. Montoliu L, Yturralde A. ¿Que es el albinismo? [Internet]. 2018 [citado el 9 de mayo de 2025]. Disponible en: <http://wwwuser.cnb.csic.es/~albino/queeselalbinismo/melanina.html>
40. Ito S, Wakamatsu K. Chemistry of mixed melanogenesis--pivotal roles of dopaquinone. *Photochem Photobiol*. 2008;84(3):582–92.
41. Land EJ, Ramsden CA, Riley PA. Tyrosinase Autoactivation and the Chemistry of ortho-Quinone Amines. *Acc Chem Res* [Internet]. el 1 de mayo de 2003 [citado el 26 de abril de 2025];36(5):300–8. Disponible en: <https://doi.org/10.1021/ar020062p>
42. Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn Rev* [Internet]. 2010 [citado el 30 de abril de 2025];4(8):118–26. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3249911/>
43. Pham-Huy LA, He H, Pham-Huy C. Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *Int J Biomed Sci IJBS* [Internet]. junio de 2008 [citado el 30 de abril de 2025];4(2):89–96. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3614697/>

44. Coronado H M, Vega y León S, Gutiérrez T R, Vázquez F M, Radilla V C. Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. *Rev Chil Nutr* [Internet]. junio de 2015 [citado el 27 de abril de 2025];42(2):206–12. Disponible en: [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S0717-75182015000200014&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0717-75182015000200014&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
45. Edo JC, Folch García J, Hernández Arce I, Guillén Arco AF. Propiedades antioxidantes de las frutas y hortalizas como estrategia antienviejimiento. *Med Estética* [Internet]. el 15 de junio de 2017 [citado el 27 de abril de 2025];51:58–60. Disponible en: <https://www.seme.org/revista/articulos/propiedades-antioxidantes-de-las-frutas-y-hortalizas-como-estrategia-antienviejimiento>
46. Oresajo C, Pillai S, Manco M, Yatskayer M, McDaniel D. Antioxidants and the skin: Understanding formulation and efficacy. *Dermatol Ther* [Internet]. 2012 [citado el 9 de mayo de 2025];25(3):252–9. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1529-8019.2012.01505.x>
47. Mena F, Mena A, Tréton J. Chapter 63 - Polyphenols against Skin Aging. En: Watson RR, Preedy VR, Zibadi S, editores. *Polyphenols in Human Health and Disease* [Internet]. San Diego: Academic Press; 2014 [citado el 4 de enero de 2025]. p. 819–30. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123984562000633>
48. Pandey KB, Rizvi SI. Plant Polyphenols as Dietary Antioxidants in Human Health and Disease. *Oxid Med Cell Longev* [Internet]. 2009 [citado el 30 de abril de 2025];2(5):897484. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.4161/oxim.2.5.9498>
49. Lizárraga-Velázquez CE, Hernández-González C, González-Aguilar GA, Basilio-Heredia J. Propiedades antioxidantes e inmunoestimulantes de polifenoles en peces carnívoros de cultivo. *CienciaUAT* [Internet]. junio de 2018 [citado el 27 de abril de 2025];12(2):127–36. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/322973439\\_Propiedades\\_antioxidantes\\_e\\_inmunoestimulantes\\_de\\_polifenoles\\_en\\_peces\\_carnivoros\\_de\\_cultivo](https://www.researchgate.net/publication/322973439_Propiedades_antioxidantes_e_inmunoestimulantes_de_polifenoles_en_peces_carnivoros_de_cultivo)

50. Manach C, Scalbert A, Morand C, Rémésy C, Jiménez L. Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr* [Internet]. el 1 de mayo de 2004 [citado el 29 de abril de 2025];79(5):727–47. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0002916522039144>
51. Scalbert A, Johnson IT, Saltmarsh M. Polifenoles: antioxidantes y más allá2. *Am J Clin Nutr* [Internet]. el 1 de enero de 2005 [citado el 29 de abril de 2025];81(1):215S-217S. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0002916523275097>
52. Pérez-Jiménez J, Neveu V, Vos F, Scalbert A. Identification of the 100 richest dietary sources of polyphenols: an application of the Phenol-Explorer database. *Eur J Clin Nutr* [Internet]. noviembre de 2010 [citado el 29 de abril de 2025];64(3):S112–20. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/ejcn2010221>
53. Keen CL, Holt RR, Polagruto JA, Wang JF, Schmitz HH. Cocoa flavanols and cardiovascular health. *Phytochem Rev* [Internet]. el 1 de mayo de 2002 [citado el 29 de abril de 2025];1(2):231–40. Disponible en: <https://doi.org/10.1023/A:1022519719938>
54. Lamuela-Raventós RM, Romero-Pérez AI, Andrés-Lacueva C, Tormero A. Review: Health Effects of Cocoa Flavonoids. *Food Sci Technol Int* [Internet]. el 1 de junio de 2005 [citado el 29 de abril de 2025];11(3):159–76. Disponible en: <https://doi.org/10.1177/1082013205054498>
55. Cai Y, Luo Q, Sun M, Corke H. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sci* [Internet]. el 12 de marzo de 2004 [citado el 30 de abril de 2025];74(17):2157–84. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7126989/>
56. Uribe-Salas D, España-Boquera ML, Torres-Miranda A, Uribe-Salas D, España-Boquera ML, Torres-Miranda A. Aspectos biogeográficos y ecológicos del género *Quercus* (Fagaceae) en Michoacán, México. *Acta Botánica Mex* [Internet]. 2019 [citado el 30 de abril de 2025];(126). Disponible en:

[http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S0187-71512019000100101&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0187-71512019000100101&lng=es&nrm=iso&tlng=es)

57. Denk T, Grimm GW, Manos PS, Deng M, Hipp A. An updated infrageneric classification of the oaks: review of previous taxonomic schemes and synthesis of evolutionary patterns [Internet]. *Plant Biology*; 2017 [citado el 27 de abril de 2025]. Disponible en: <http://biorxiv.org/lookup/doi/10.1101/168146>
58. Rodríguez-Trejo DA, García Pascual E. *Quercus L. (Fagaceae)*. En: *Semillas de Especies Forestales* [Internet]. División de Ciencias Forestales. Chapingo, Edo. de Méx.: Universidad Autónoma Chapingo; 2021 [citado el 30 de abril de 2025]. p. 298–328. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/351263143\\_Quercus\\_L\\_Fagaceae](https://www.researchgate.net/publication/351263143_Quercus_L_Fagaceae)
59. Argueta-Solís MG, Aguilar CN, Pintor-Ibarra LF, Chávez-González M, Rojas-Molina R, Wong-Paz JE, et al. Inhibición de la oxidación de lípidos y constituyentes fenólicos relacionados en la madera y la corteza de tres especies de encino (*Quercus candicans*, *Q. laurina* y *Q. rugosa*). *Agrociencia* [Internet]. agosto de 2018 [citado el 8 de enero de 2025];52(5):757–66. Disponible en: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S1405-31952018000500757&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1405-31952018000500757&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
60. CONABIO. EncicloVida. [citado el 30 de abril de 2025]. Encino blanco (*Quercus scytophylla*). Disponible en: <https://enciclovida.mx:443/especies/150806-quercus-quercus-scytophylla>
61. Castellanos JRS, Alquicira IM, Medina JZ. Módulo de rigidez de especies de madera de importancia comercial para México: *Pinus pseudostrobus*, *Tabebuia rosea* y *Quercus scytophylla*. *Manglar* [Internet]. el 9 de octubre de 2023 [citado el 30 de abril de 2025];20(3):211–9. Disponible en: <https://revistas.untumbes.edu.pe/index.php/manglar/article/view/394>

62. Castellanos JRS, Alquicira IM, González EM. Resistividad eléctrica de la madera de *Pinus pseudostrobus*, *Tabebuia rosea* y *Quercus scytophylla*. INNOTEC [Internet]. el 28 de diciembre de 2022 [citado el 30 de abril de 2025];(24 jul-dic):e621–e621. Disponible en: <https://ojs.latu.org.uy/index.php/INNOTEC/article/view/621>
63. Bhogal N, Combes R, Balls M. Preclinical Drug Development Planning. En: Preclinical Development Handbook [Internet]. John Wiley & Sons, Ltd; 2008 [citado el 4 de enero de 2025]. p. 1–63. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9780470249055.ch1>
64. Buenas Tareas [Internet]. [citado el 10 de mayo de 2025]. NMX-F-083-1986. ALIMENTOS. DETERMINACIÓN DE HUMEDAD EN PRODUCTOS ALIMENTICIOS. - Trabajos de investigación - 453 Palabras. Disponible en: <https://www.buenastareas.com/ensayos/Nmx-f-083-1986-Alimentos-Determinaci%C3%B3n-De-Humedad-En/32615806.html>
65. García-Pérez ME, Royer M, Duque-Fernandez A, Diouf PN, Stevanovic T, Pouliot R. Antioxidant, toxicological and antiproliferative properties of Canadian polyphenolic extracts on normal and psoriatic keratinocytes. *J Ethnopharmacol.* el 28 de octubre de 2010;132(1):251–8.
66. Avalos-Viveros M, Santolalla-Vargas CE, Santes-Hernández VF, Martínez-Flores HE, Torres-García E, López-Meza JE, et al. Valorization of avocado peels by conventional extraction and hydrothermal carbonization for cosmeceutical applications. *Sustain Chem Pharm* [Internet]. el 1 de diciembre de 2023 [citado el 15 de abril de 2024];36:101335. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352554123003698>
67. Brighente IMC, Dias M, Verdi LG, Pizzolatti MG. Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of Some Brazilian Species. *Pharm Biol* [Internet]. el 1 de enero de 2007 [citado el 2 de enero de 2025]; Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/13880200601113131>

68. Porter LJ, Hrstich LN, Chan BG. The conversion of procyanidins and prodelphinidins to cyanidin and delphinidin. *Phytochemistry* [Internet]. el 23 de diciembre de 1985 [citado el 2 de enero de 2025];25(1):223–30. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031942200945333>
69. Scalbert A, Monties B, Janin G. Tannins in wood: comparison of different estimation methods. *J Agric Food Chem* [Internet]. el 1 de septiembre de 1989;37(5):1324–9. Disponible en: <https://doi.org/10.1021/jf00089a026>
70. Bárcenas-Pazos GM, Ríos-Villa R, Aguirre-Rivera JR, Juárez-Flores BI, Honorato-Salazar JA. Composición química y densidad básica relativa de la madera de dos especies arbustivas de encino blanco de la Sierra de Álvarez, SLP, México. *Madera Bosques* [Internet]. 2008 [citado el 20 de junio de 2024];14(3):81–94. Disponible en: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S1405-04712008000300004&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1405-04712008000300004&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
71. Smirnoff N, Cumbes QJ. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. *Phytochemistry* [Internet]. el 1 de enero de 1989 [citado el 7 de abril de 2025];28(4):1057–60. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0031942289801827>
72. Avalos Viveros M. Efecto neuro protector de la desviación inmunológica asociada a la cámara anterior del ojo inducida con antígenos neurales en ratas con lesión del nervio óptico. abril de 2019 [citado el 1 de enero de 2025]; Disponible en: [http://bibliotecavirtual.dgb.umich.mx:8083/xmlui/handle/DGB\\_UMICH/17548](http://bibliotecavirtual.dgb.umich.mx:8083/xmlui/handle/DGB_UMICH/17548)
73. Ersoy E, Eroglu Ozkan E, Boga M, Yilmaz MA, Mat A. Potencial antienvjecimiento y actividad antitirosinasa de tres especies de *Hypericum* con enfoque en la composición fitoquímica por LC-MS/MS. *Ind Crops Prod* [Internet]. el 1 de diciembre de 2019 [citado el 9 de mayo de 2025];141:111735. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669019307459>
74. Royer M, Prado M, García-Pérez ME, Diouf PN, Stevanovic T. Study of nutraceutical, nutricosmetics and cosmeceutical potentials of polyphenolic bark extracts from Canadian

- forest species. PharmaNutrition [Internet]. el 1 de octubre de 2013 [citado el 9 de mayo de 2025];1(4):158–67. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213434413000273>
75. Chou TC, Talalay P. Quantitative analysis of dose-effect relationships: the combined effects of multiple drugs or enzyme inhibitors. *Adv Enzyme Regul.* 1984;22:27–55.
76. Chou TC. The combination index ( $CI < 1$ ) as the definition of synergism and of synergy claims. *Synergy* [Internet]. el 1 de diciembre de 2018 [citado el 20 de abril de 2025];7:49–50. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213713018300051>
77. Piña-García S. Evaluación del potencial antioxidante y actividad antielastasa de un extracto de *Q. scytophylla* [Tesis de licenciatura]. UMSNH; 2025.
78. Carlavilla D, Villamiel M, Martínez-Castro I, Moreno-Arribas MV. Occurrence and Significance of Quercitol and Other Inositols in Wines during Oak Wood Aging. *Am J Enol Vitic* [Internet]. el 1 de diciembre de 2006 [citado el 9 de mayo de 2025];57(4):468–73. Disponible en: <https://www.ajevonline.org/content/57/4/468>
79. Rodríguez-Sánchez S, Ruiz-Matute AI, Alañón ME, Pérez-Coello MS, Julio-Torres LF de, Morales Valverde R, et al. Analysis of cyclitols in different *Quercus* species by gas chromatography–mass spectrometry. agosto de 2010 [citado el 9 de mayo de 2025]; Disponible en: <https://digital.csic.es/handle/10261/49724>
80. Beltrán-Rodríguez L, Cristians S, Sierra-Huelsz JA, Blancas Vázquez J, Maldonado B, Bye R. ResearchGate. 2020 [citado el 9 de mayo de 2025]. Las cortezas como productos forestales no maderables en México: análisis nacional Y recomendaciones para su aprovechamiento sostenible. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/348740275\\_LAS\\_CORTEZAS\\_COMO\\_PRODUCTOS\\_FORESTALES\\_NO\\_MADERABLES\\_EN\\_MEXICO\\_ANALISIS\\_NACIONAL\\_Y\\_RECOMENDACIONES\\_PARA\\_SU\\_APROVECHAMIENTO\\_SOSTENIBLE](https://www.researchgate.net/publication/348740275_LAS_CORTEZAS_COMO_PRODUCTOS_FORESTALES_NO_MADERABLES_EN_MEXICO_ANALISIS_NACIONAL_Y_RECOMENDACIONES_PARA_SU_APROVECHAMIENTO_SOSTENIBLE)

81. Choi CM, Berson DS. Cosmeceuticals. *Semin Cutan Med Surg.* septiembre de 2006;25(3):163–8.
82. Hashim AM, Alharbi BM, Abdulmajeed AM, Elkelish A, Hozzein WN, Hassan HM. Oxidative Stress Responses of Some Endemic Plants to High Altitudes by Intensifying Antioxidants and Secondary Metabolites Content. *Plants [Internet].* julio de 2020 [citado el 9 de mayo de 2025];9(7):869. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2223-7747/9/7/869>
83. Sousa V, Ferreira JPA, Miranda I, Quilhó T, Pereira H. *Quercus rotundifolia* Bark as a Source of Polar Extracts: Structural and Chemical Characterization. *Forests [Internet].* septiembre de 2021 [citado el 24 de junio de 2024];12(9):1160. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1999-4907/12/9/1160>
84. Nisca A, Ștefănescu R, Mocan A, Babotă M, Nicolescu A, Mare AD, et al. A Comparative Analysis of Polyphenol Content and Biological Potential of *Quercus petraea* Matt. and *Q. pubescens* Willd. Bark Extracts. *Forests [Internet].* enero de 2023 [citado el 24 de junio de 2024];14(1):116. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1999-4907/14/1/116>
85. Racette SB, Lin X, Lefevre M, Spearie CA, Most MM, Ma L, et al. Dose effects of dietary phytosterols on cholesterol metabolism: a controlled feeding study<sup>123</sup>. *Am J Clin Nutr [Internet].* enero de 2010 [citado el 9 de mayo de 2025];91(1):32–8. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2793103/>
86. Adhimoolam K, Sureshbabu A, Smirnova E, Muthuramalingam P, Do Thi CT, Senthil K, et al.  $\beta$ -Sitosterol—Dietary sources and role in cancer and diabetes management. *Food Sci Nutr [Internet].* 2024 [citado el 9 de mayo de 2025];12(11):8870–86. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/fsn3.4380>
87. Nandi S, Nag A, Khatua S, Sen S, Chakraborty N, Naskar A, et al. Anticancer activity and other biomedical properties of  $\beta$ -sitosterol: Bridging phytochemistry and current pharmacological evidence for future translational approaches. *Phytother Res [Internet].*

- 2024 [citado el 9 de mayo de 2025];38(2):592–619. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ptr.8061>
88. Definición de betasitosterol - Diccionario de cáncer del NCI - NCI [Internet]. 2011 [citado el 7 de abril de 2025]. Disponible en: <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/def/betasitosterol>
89. León-Camacho M, Viera-Alcaide I, Vicario IM. Acorn (*Quercus* spp.) fruit lipids: Saponifiable and unsaponifiable fractions: A detailed study. *J Am Oil Chem Soc* [Internet]. 2004 [citado el 7 de abril de 2025];81(5):447–53. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1007/s11746-004-0921-8>
90. Krishnaveni M, Saranya S. ResearchGate. 2016 [citado el 9 de mayo de 2025]. Phytoconstituent Analysis of *Nigella Sativa* Seeds using Analytical Techniques. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/298788379\\_Phytoconstituent\\_Analysis\\_of\\_Nigella\\_Sativa\\_Seeds\\_using\\_Analytical\\_Techniques](https://www.researchgate.net/publication/298788379_Phytoconstituent_Analysis_of_Nigella_Sativa_Seeds_using_Analytical_Techniques)
91. Choi SJ, Kim JK, Kim HK, Harris K, Kim CJ, Park GG, et al. <https://home.liebertpub.com/jmf>. Mary Ann Liebert, Inc. 140 Huguenot Street, 3rd Floor New Rochelle, NY 10801 USA; 2013 [citado el 10 de abril de 2025]. 2,4-Di-tert-butylphenol from Sweet Potato Protects Against Oxidative Stress in PC12 Cells and in Mice. Disponible en: <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/jmf.2012.2739>
92. Febles Fernández C, Soto Febles C, Saldaña Bernabeu A, García Triana BE. Funciones de la vitamina E: Actualización. *Rev Cuba Estomatol* [Internet]. abril de 2002 [citado el 10 de abril de 2025];39(1):28–32. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S0034-75072002000100005&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0034-75072002000100005&lng=es&nrm=iso&tlng=es)

93. Pita Rodríguez G. Funciones de la Vitamina E en la nutrición humana. *Rev Cuba Aliment Nutr* [Internet]. 1997 [citado el 10 de abril de 2025];46–57. Disponible en: [http://bvs.sld.cu/revistas/ali/vol11\\_1\\_97/ali07197.htm](http://bvs.sld.cu/revistas/ali/vol11_1_97/ali07197.htm)
94. Carvajal Carvajal C. Especies reactivas del oxígeno: formación, función y estrés oxidativo. *Med Leg Costa Rica* [Internet]. marzo de 2019 [citado el 12 de abril de 2025];36(1):91–100. Disponible en: [http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S1409-00152019000100091&lng=en&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1409-00152019000100091&lng=en&nrm=iso&tlng=es)
95. Priani S, Fakhri T. Insights into Molecular Interaction of Flavonoid Compounds in Citrus Peel Bound to Collagenase and Elastase Enzymes: A Computational Study. *Pharm Sci Res* [Internet]. el 30 de agosto de 2021;8(2). Disponible en: <https://scholarhub.ui.ac.id/psr/vol8/iss2/5>
96. Zhao F, Wang P, Lucardi RD, Su Z, Li S. Natural Sources and Bioactivities of 2,4-Di-Tert-Butylphenol and Its Analogs. *Toxins* [Internet]. enero de 2020 [citado el 10 de abril de 2025];12(1):35. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2072-6651/12/1/35>
97. Chang TS. An Updated Review of Tyrosinase Inhibitors. *Int J Mol Sci* [Internet]. el 26 de mayo de 2009 [citado el 9 de mayo de 2025];10(6):2440–75. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2705500/>
98. Paredes Ruiz FMH. Identificación de extractos de fuentes naturales con actividad inhibitoria de tirosinasa [Internet]. Universidad Autónoma Metropolitana; 2013 [citado el 19 de abril de 2025]. Disponible en: <https://doi.org/10.24275/uami.9g54xh780>
99. Sari S, Barut B, Özel A, Kuruüzüm-Uz A, Şöhretoğlu D. Tyrosinase and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory potential of compounds isolated from *Quercus coccifera* bark: In vitro and in silico perspectives. *Bioorganic Chem.* mayo de 2019;86:296–304.
100. Yu Q, Fan L, Duan Z. Five individual polyphenols as tyrosinase inhibitors: Inhibitory activity, synergistic effect, action mechanism, and molecular docking. *Food Chem*

- [Internet]. el 1 de noviembre de 2019 [citado el 10 de mayo de 2025];297:124910. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814619309975>
101. Chiari ME, Joray MB, Ruiz G, Palacios SM, Carpinella MC. Actividad inhibidora de la tirosinasa de plantas nativas del centro de Argentina: Aislamiento de un principio activo de *Lithrea molleoides*. Food Chem [Internet]. el 1 de mayo de 2010 [citado el 19 de abril de 2025];120(1):10–4. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814609011212>
  102. Funasaka Y, Chakraborty AK, Komoto M, Ohashi A, Ichihashi M. The depigmenting effect of  $\alpha$ -tocopheryl ferulate on human melanoma cells. Br J Dermatol [Internet]. el 1 de julio de 1999 [citado el 10 de mayo de 2025];141(1):20–9. Disponible en: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2133.1999.02916.x>
  103. Kamei Y, Otsuka Y, Abe K. Comparison of the inhibitory effects of vitamin E analogues on melanogenesis in mouse B16 melanoma cells. Cytotechnology [Internet]. el 1 de abril de 2009 [citado el 10 de mayo de 2025];59(3):183–90. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s10616-009-9207-y>
  104. Makpol S, Jam FA, Rahim NA, Khor SC, Ismail Z, Yusof Y a. M, et al. Comparable down-regulation of TYR, TYRP1 and TYRP2 genes and inhibition of melanogenesis by tyrostat, tocotrienol-rich fraction and tocopherol in human skin melanocytes improves skin pigmentation. Clin Ter. 2014;165(1):e39-45.
  105. Younis MM, Ayoub IM, Mostafa NM, El Hassab MA, Eldehna WM, Al-Rashood ST, et al. GC/MS Profiling, Anti-Collagenase, Anti-Elastase, Anti-Tyrosinase and Anti-Hyaluronidase Activities of a *Stenocarpus sinuatus* Leaves Extract. Plants [Internet]. enero de 2022 [citado el 9 de enero de 2025];11(7):918. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2223-7747/11/7/918>
  106. Yap WN, Zaiden N, Xu CH, Chen A, Ong S, Teo V, et al. Gamma- and delta-tocotrienols inhibit skin melanin synthesis by suppressing constitutive and UV-induced tyrosinase activation. Pigment Cell Melanoma Res [Internet]. 2010 [citado el 22 de abril de

2025];23(5):688–92. Disponible en:  
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1755-148X.2010.00740.x>

107. Hashim FJ, Vichitphan S, Han J, Vichitphan K. Alternative Approach for Specific Tyrosinase Inhibitor Screening: Uncompetitive Inhibition of Tyrosinase by *Moringa oleifera*. *Molecules* [Internet]. enero de 2021 [citado el 19 de abril de 2025];26(15):4576. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1420-3049/26/15/4576>
108. Nmx f 083 1986 - una norma mexicana - SECRETARIA DE COMERCIO Y FOMENTO INDUSTRIAL NORMA MEXICANA - Studocu [Internet]. [citado el 2 de enero de 2025]. Disponible en: <https://www.studocu.com/es-mx/document/instituto-tecnologico-de-sonora/sistema-educativo-mexicano/nmx-f-083-1986-una-norma-mexicana/82796312>

## ANEXOS

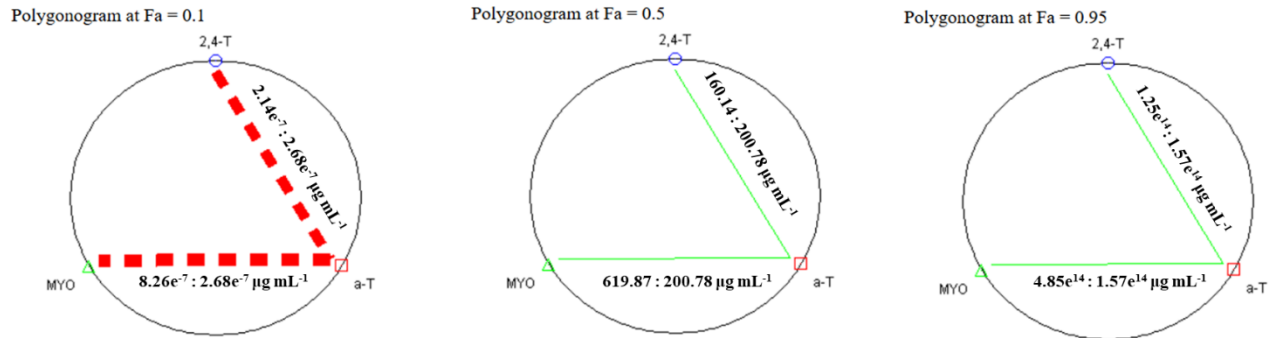
## A) Contenido de Fenoles totales e inhibición de la enzima tirosinasa. Fuente (107)

Extracto de planta	TPC (mg GAE/g Extracto)	IC <sub>50</sub> (µg/mL) de TYR
<i>Hoja de Alpinia galanga</i>	448,1 ± 2,3	240,4 ± 0,3
<i>Rizoma de Alpinia galanga</i> BL	651,9 ± 4,2	105,4 ± 0,2
<i>Rizoma de Alpinia galanga</i> YL	121,0 ± 0,3	294,6 ± 0,3
<i>Hoja de Moringa oleifera</i>	472,4 ± 2,8	121,3 ± 0,4
<i>Hoja de panax ginseng</i>	146,5 ± 0,8	311,2 ± 0,4
<i>Rizoma de Panax ginseng</i>	233,0 ± 1,0	324,0 ± 0,5
<i>Semilla de Vitis vinifera</i>	364,8 ± 1,2	94,8 ± 0,2
Ácido ascórbico	- <sup>1</sup>	235,7 ± 1,0
Ácido kójico	- <sup>1</sup>	192,3 ± 0,4

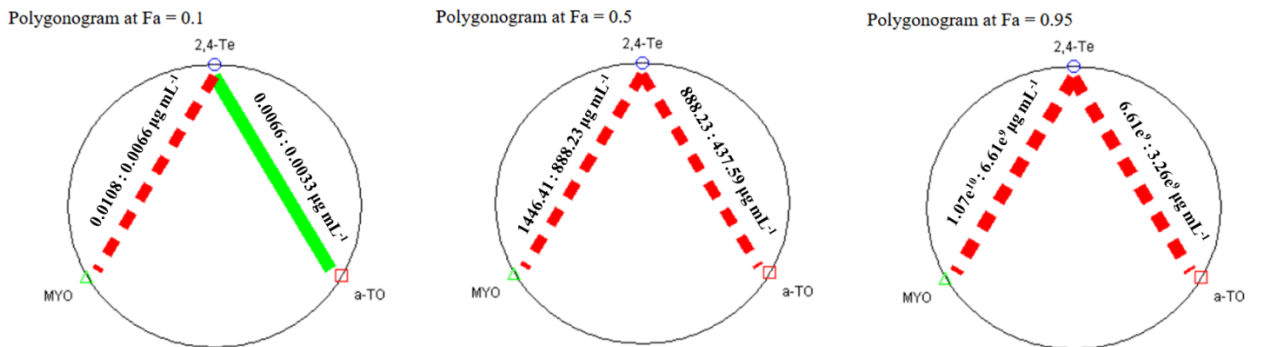
<sup>1</sup> No determinado.

**B) Poligonogramas. Interacción de los compuestos en función del porcentaje de inhibición de las enzimas elastasa y tirosinasa.**

A continuación, se muestran las representaciones gráficas de las interacciones de 2,4- Di-ter Butilfenol (2,4-DTBP),  $\alpha$ -Tocoferol y Myo-inositol a diferentes concentraciones y sus efectos sobre la actividad de las enzimas elastasa y tirosinasa (**Anexos B1 y B2**).



Anexo B1) Poligonogramas al 10, 50 y 95 % del efecto en la inhibición de la actividad enzimática de la elastasa del  $\alpha$ -tocoferol ( $\alpha$ -T) en interacción binaria con 2,4-Terbutilfenol (2,4-T) y Myo-inositol (MYO) en  $\mu\text{g/mL}^{-1}$ . La línea punteada roja corresponde al antagonismo; la línea delgada verde corresponde a la adición, respectivamente.




Anexo B2) Poligonogramas al 10, 50 y 95% de efecto en la inhibición de la actividad enzimática de la tirosinasa del 2,4 di-terc Butilfenol (2,4-T) en interacción binaria con  $\alpha$ -tocoferol ( $\alpha$ -T) y Myo-inositol (MYO) en  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . La línea punteada roja corresponde al antagonismo; la línea gruesa verde corresponde al sinergismo, respectivamente.



**Yosniel Peña Hernández**

## Efecto antiedad y caracterización química de un extracto acuoso de cortezas de *Quercus scytophylla*.p

 Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

### Detalles del documento

Identificador de la entrega  
trn:oid::3117:460677267

Fecha de entrega  
19 may 2025, 3:58 p.m. GMT-6

Fecha de descarga  
19 may 2025, 4:02 p.m. GMT-6

Nombre de archivo  
Efecto antiedad y caracterización química de un extracto acuoso de cortezas de *Quercus scytoph...*.pdf

Tamaño de archivo  
2.3 MB

84 Páginas

22.139 Palabras

128.031 Caracteres



## Formato de Declaración de Originalidad y Uso de Inteligencia Artificial

Coordinación General de Estudios de Posgrado  
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo



A quien corresponda,

Por este medio, quien abajo firma, bajo protesta de decir verdad, declara lo siguiente:

- Que presenta para revisión de originalidad el manuscrito cuyos detalles se especifican abajo.
- Que todas las fuentes consultadas para la elaboración del manuscrito están debidamente identificadas dentro del cuerpo del texto, e incluidas en la lista de referencias.
- Que, en caso de haber usado un sistema de inteligencia artificial, en cualquier etapa del desarrollo de su trabajo, lo ha especificado en la tabla que se encuentra en este documento.
- Que conoce la normativa de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, en particular los Incisos IX y XII del artículo 85, y los artículos 88 y 101 del Estatuto Universitario de la UMSNH, además del transitorio tercero del Reglamento General para los Estudios de Posgrado de la UMSNH.

Datos del manuscrito que se presenta a revisión		
<b>Programa educativo</b>	Programa Institucional de Maestría en Ciencias Biológicas	
<b>Título del trabajo</b>	Efecto antiedad y caracterización química de un extracto acuoso de cortezas de <i>Quercus scytophylla</i> .	
	<b>Nombre</b>	<b>Correo electrónico</b>
<b>Autor/es</b>	Yosniel Peña Hernández	<a href="mailto:2331210k@umich.mx">2331210k@umich.mx</a>
<b>Director</b>	Martha Estrella García Pérez	<a href="mailto:estrella.perez@umich.mx">estrella.perez@umich.mx</a>
<b>Codirector</b>	José Juan Virgen Ortiz	<a href="mailto:juanvirgen@hotmail.com">juanvirgen@hotmail.com</a>
<b>Coordinador del programa</b>	Martha Elena Pedraza Santos	<a href="mailto:mae.ciencias.biologicas@umich.mx">mae.ciencias.biologicas@umich.mx</a>


Uso de Inteligencia Artificial		
Rubro	Uso (sí/no)	Descripción
<b>Asistencia en la redacción</b>	No	La redacción fue personal y asistida con la ayuda de mis asesores y sinodales

## Formato de Declaración de Originalidad y Uso de Inteligencia Artificial

Coordinación General de Estudios de Posgrado  
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo



Uso de Inteligencia Artificial		
Rubro	Uso (sí/no)	Descripción
Traducción al español	No	No se requirió de herramientas para traducir al español, aunque el buscador de internet trae la opción de traducción automática
Traducción a otra lengua	No	
Revisión y corrección de estilo	No	La redacción fue personal y asistida con la ayuda de mis asesores y sinodales
Análisis de datos	No	Se utilizaron los softwares estadísticos Past 4, JMP, JASP, hoja de cálculo Excel y otros, que aunque quizás tengan algo de inteligencia artificial integrados, no son considerados softwares que se utilicen con este fin
Búsqueda y organización de información	Si	Se realizaron búsquedas masivas de documentos específicos con el Gemini 2.0
Formateo de las referencias bibliográficas	No	Las referencias bibliográficas se introdujeron y manejaron con Zotero 7.0.15 (64-bit) en todo el documento
Generación de contenido multimedia	No	No se utilizaron herramientas de inteligencia artificial con tal propósito.
Otro	No	

Datos del solicitante	
Nombre y firma	Yosniel Peña Hernández 
Lugar y fecha	Morelia, Michoacán 18/05/2025