

UNIVERSIDAD DE CONCEPCION

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

PROGRAMA DE DOCTORADO EN BIOTECNOLOGIA MOLECULAR

TÍTULO DE LA TESIS:

DESARROLLO PRECLÍNICO DE UNA FORMULACIÓN FARMACÉUTICA CICATRIZANTE PARA USO TÓPICO A BASE DE EXTRACTOS VEGETALES

Nelson Roberto Rojas Velis

Nombre del Profesor Guía: Dra. Allisson Astuya Villalón

Nombre del Profesor Co-Guía: Dr. Roberto Abdala Díaz

Concepción, mayo de 2025

DERECHO DE AUTOR

© 2025 NELSON ROBERTO ROJAS VELIS

Ninguna parte de esta tesis puede reproducirse o transmitirse bajo ninguna forma o por ningún medio o procedimiento, sin permiso por escrito del autor.

Esta tesis ha sido realizada en el Laboratorio de Biotoxinas, del Departamento de Oceanografía y el Centro de Investigación Oceanográfica Costera COPAS, de la Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas; y el Departamento de Fisiopatología y Biofármacos de la Facultad de Ciencias Biológicas, de la Universidad de Concepción. También en el Departamento de Ecología, de la Facultad de Ciencias; el Instituto de Biotecnología y Desarrollo Azul (IBYDA); y Servicios Centrales de Apoyo a la Investigación (SCAI), de la Universidad de Málaga, España.

Profesor guía:

Dra. Allisson Astuya Villalón
Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas
Universidad de Concepción

Profesor Co-guía:

Dr. Roberto Abdala Díaz
Facultad de Ciencias
Universidad de Málaga

Comisión evaluadora:

Dra. Carolina Gómez Gaete
Facultad de Farmacia
Universidad de Concepción

Dra. María de los Ángeles García Robles
Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad de Concepción

Directora del Programa

Dra. Raquel Montesino Segui
Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad de Concepción

AGRADECIMIENTOS

Quisiera dedicar estas líneas para reconocer y agradecer el valioso apoyo recibido a lo largo de la realización de esta tesis doctoral. Sin la colaboración, el respaldo y el aliento de numerosas personas e instituciones, este trabajo no habría llegado a buen puerto.

Quiero expresar mi más profundo agradecimiento al Dr. Roberto Abdala, cuyo ímpetu, sólido respaldo y extensa red de contactos hicieron posible gran parte de los resultados presentados en esta tesis e influyeron de manera decisiva en mi motivación para llevarla a buen término. Asimismo, agradezco de modo muy especial a la Dra. Allisson Astuya, quien me abrió las puertas de su laboratorio, me brindó un espacio de trabajo idóneo y me alentó en cada etapa de este proceso. Mi reconocimiento también al Dr. Jorge Toledo, por su apoyo desde el inicio de mi incorporación al programa de doctorado, facilitándome acceso a laboratorios y a todos los recursos necesarios para el desarrollo de esta investigación. Del mismo modo, deseo agradecer a la directora del programa de doctorado, Dra. Raquel Montesino, por su tolerancia y su importante apoyo, que fueron clave para superar los momentos más desafiantes de este recorrido académico.

Agradezco también a los Servicios Centrales de Apoyo a la Investigación (SCAI) de la Universidad de Málaga (España) por poner a mi disposición la infraestructura esencial que ha sido clave para el avance de este estudio. Asimismo, valoro enormemente las aportaciones del Laboratorio de Biotoxinas (LBTx-UdeC) y del Laboratorio de Biotecnología y Biofármacos (LBB-UdeC) de la Universidad de Concepción, así como el respaldo del centro de investigación COPAS COASTAL. Mi gratitud se extiende a todos los colegas cuyas ideas, sugerencias y críticas enriquecieron cada etapa de este trabajo. Finalmente, quiero expresar un reconocimiento especial a la empresa Centro de Biotecnología Aplicada Athymia por su aporte en material vegetal, recursos y resultados preliminares.

Finalmente, quiero dar las gracias a mi familia, y muy especialmente a mi esposa Rosita, cuyo amor, comprensión y apoyo incondicional han sostenido este esfuerzo; y a mis padres, por su constante aliento y confianza, sin los cuales nada de lo aquí logrado habría sido posible.

Contenido

DERECHO DE AUTOR	2
AGRADECIMIENTOS.....	4
ABREVIATURAS.....	11
RESUMEN.....	12
ABSTRACT	13
INTRODUCCIÓN	14
Características y antecedentes relacionados al tratamiento de heridas de las especies vegetales de los géneros <i>Quercus</i> y <i>Opuntia</i>	16
Características de los productos para el tratamiento de heridas.....	20
Patentes sobre aplicaciones médicas y dermatológicas relacionadas a <i>Quercus robur</i> y <i>Opuntia ficus-indica</i> ...21	
Patentes Combinando <i>Quercus</i> y <i>Opuntia</i>	22
HIPOTESIS DE TRABAJO:	23
OBJETIVO GENERAL Y OBJETIVOS ESPECÍFICOS.	24
METODOLOGÍA:.....	25
Extractos Vegetales utilizados en el estudio:.....	25
Obtención de Extractos Acuosa de Hoja de <i>Quercus robur</i>	25
Método 1: Infusión en Agua Caliente	25
Método 2: Maceración en Frío con Agitación y Liofilización	25
Metodología de Extracción Acuosa de Cladodios de <i>Opuntia ficus-indica</i>	26
Material Vegetal y Preparación.....	26
Método 1: Proceso de Extracción Acuosa por Maceración en Caliente con Agitación	26
Método 2: Proceso de Extracción por Licuado, Maceración en Frío y Liofilización.....	26
Control Positivo: Reoxcare®	26
Caracterización Organoléptica y Físico-Química	26
Análisis Fitoquímico	27
Tamizaje Fitoquímico Cualitativo	27
Análisis Cuantitativo.....	27

Actividad Antioxidante	27
Perfil Cromatográfico	27
Evaluación de las propiedades cicatrizantes en Queratinocitos (HaCat) tratados con extractos vegetales.....	27
Cultivo celular y tratamientos	28
Ensayos de citotoxicidad (ensayos MTT).....	28
Ensayo de proliferación y migración celular	28
Análisis proteómico	28
Desarrollo y evaluación de formulaciones piloto que logren preservar la estabilidad fisicoquímica y la aceptabilidad sensorial de las formulaciones.....	29
Formulaciones y proceso de elaboración:	29
Hidrogel de carbómero	29
Novobase II (crema O/W base)	30
Quitobase (crema O/W con quitosano)	30
Evaluaciones organolépticas	31
RESULTADOS.....	32
Caracterización de extractos de <i>Quercus robur</i>	32
Composición del extracto acuoso de hojas de <i>Quercus robur</i>	33
Comparación de métodos de extracción y caracterización fisicoquímica de extractos acuosos de <i>Opuntia ficus-indica</i>	33
Identificación de metabolitos clave en extractos acuosos (Método 2) mediante UPLC–DAD–ESI–MS/MS	34
Perfil de huella metabólica de la mezcla <i>Quercus robur</i> / <i>Opuntia ficus-indica</i> mediante UHPLC–DAD–ESI–MS/MS	35
Efecto de los extractos de <i>Quercus robur</i> sobre la viabilidad celular	36
Efecto de los extractos de <i>Opuntia ficus-indica</i> sobre la viabilidad celular.....	36
Efectos de los extractos de <i>Quercus robur</i> y <i>Opuntia ficus-indica</i> en ensayo de herida a 48h	37
Efectos de los extractos de <i>Quercus robur</i> en la migración celular	39
Análisis proteómico	40
Efectos del extracto acuoso de <i>Quercus robur</i> en el perfil proteómico de queratinocitos humanos	40
Análisis de redes de interacción proteína-proteína (PPI)	41
Análisis de enriquecimiento funcional	42

Vía de biosíntesis de esteroides	43
Estabilidad físico-química y pH de las formulaciones galénicas con extractos de <i>Opuntia ficus-indica</i> y <i>Quercus robur</i>	44
Hidrogel de carbómero	44
Novobase II (crema O/W base)	45
Quitobase (crema O/W con quitosano)	45
Evaluaciones organolépticas de las formulaciones galénicas con extractos de <i>Opuntia ficus-indica</i> y <i>Quercus robur</i>	46
DISCUSIÓN	47
Métodos de extracción y caracterización fitoquímica	47
Citotoxicidad y rango de seguridad <i>in vitro</i>	47
Potencial cicatrizante basado en ensayos de migración celular	48
Mecanismos moleculares: análisis proteómico	49
Rol de la biosíntesis de colesterol en la cicatrización	50
Mecanismo de acción sugerido	51
Desarrollo y evaluación de formulaciones piloto	51
Limitaciones y alcances del estudio	52
Orientaciones futuras	52
CONCLUSIONES	54
APÉNDICE CUADRO A1. PROTEÍNAS	55
Overview of Important Differentially Expressed	55
BIBLIOGRAFÍA	62

Índice de Tablas:

Tabla 1: Componentes de extractos herbales de <i>Quercus</i> spp.	17
Tabla 2: Acción terapéutica reportada para preparaciones herbales de <i>Quercus</i> spp.	17
Tabla 3: Componentes encontrados en extractos herbales de <i>Opuntia</i> spp.	19
Tabla 4: Potenciales usos terapéuticos descritos de <i>Opuntia</i> spp.	19
Tabla 5: Apósitos para heridas actualmente disponibles.	20

Tabla 6: Composición de formulaciones de gel de carbómero con extracto EC (porcentaje en peso, % p/p)	29
Tabla 7: Composición porcentual de las formulaciones Novobase II con extracto EC (% p/p)	30
Tabla 8: Composición porcentual de las formulaciones Quitobase con extracto EC (% p/p)	30
Tabla 9: Hallazgos de Rendimiento, Composición y Actividad Biológica de Extractos Acuosa de Quercus robur: Infusión en Agua Caliente vs. Maceración en Frío con Liofilización.....	32
Tabla 10: Caracterización Físicoquímica del Extracto Acuoso (Método 2) de Quercus robur mediante TGA, DSC y FTIR.	33
Tabla 11: Perfil del extracto de hojas de Q. robur; los datos se expresan en % y mg·g ⁻¹ DW, incluyendo su desviación estándar.....	33
Tabla 12: Comparación de rendimiento y composición de extractos de Opuntia ficus-indica según método de extracción	34
Tabla 13: Caracterización Físicoquímica del Extracto Acuoso (Método 2) de Opuntia ficus indica mediante TGA, DSC y FTIR.....	34
Tabla 14: Compuestos identificados por UPLC–DAD–ESI–MS/MS en extractos acuosa (Método 2) de Quercus robur y Opuntia ficus-indica.....	34
Tabla 15: Proceso biológico (Gene Ontology). Esta tabla enumera los términos de procesos biológicos de Gene Ontology (GO) que se enriquecen en la red de interacción proteína-proteína (PPI). Los términos GO proporcionan descripciones funcionales de los procesos biológicos en los que participan las proteínas de la red. La intensidad representa la relación entre la proporción de proteínas del término GO en la red y la proporción esperada en todo el genoma.	43
Tabla 16: «Vías de Reactome». Esta tabla enumera las vías de Reactome enriquecidas en la red de interacción proteína-proteína (PPI). Las vías de Reactome proporcionan descripciones detalladas de las rutas metabólicas y de señalización en las que participan las proteínas de la red.	43
Tabla 17: Resultados de estabilidad y pH del Hidrogel de carbómero.....	45
Tabla 18: Resultados de estabilidad y pH de Novobase II (crema O/W base)	45
Tabla 19: Resultados de estabilidad y pH de Quitobase (crema O/W con quitosano)	45
Tabla 20: Resultados de las evaluaciones organolépticas de gel y cremas formuladas con extractos de Opuntia ficus-indica y Quercus robur.	46
Tabla 21: Resumen de las principales proteínas expresadas diferencialmente (DEP) identificadas mediante el análisis proteómico de queratinocitos humanos tratados con extracto de hoja de Quercus robur L. La tabla incluye el símbolo del gen, el nombre completo de la proteína, los valores de cambio de pliegue (FC) con una precisión de dos decimales y los valores p con una precisión de cuatro decimales. Las funciones moleculares se proporcionan basándose en las anotaciones GO.....	55

Índice de Figuras:

- Figura 1: Dispositivo IBIDI Culture-Insert en placa de dos pocillos, que genera una brecha de ancho estandarizado tras la retirada del inserto, permitiendo evaluar de forma reproducible la migración de la monocapa de células HaCaT en el ensayo de cicatrización in vitro.28
- Figura 2: Huella química UHPLC–DAD–ESI–MS/MS de una combinación de extractos 30% Q. robur y 70% O. ficus-indica obtenidos según el método 2. El cuál fue resuspendido a una concentración de 1 mg/ml, filtrado a través de 0.22 μm e inyectado directamente. Para la separación se utilizó una columna C-18.35
- Figura 3: Efecto del extracto de Q. robur y del gel Reoxcare sobre la viabilidad de las células HaCaT. El gráfico muestra el porcentaje de viabilidad celular en respuesta a un rango de concentraciones del extracto (0-2.500 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$). Las barras de error indican la desviación estándar de las mediciones. El gráfico muestra tres experimentos realizados en semanas diferentes, con tres réplicas cada uno (n=3, N=3).36
- Figura 4: Efecto del extracto de O. ficus-indica sobre la viabilidad de las células HaCaT. El gráfico muestra el porcentaje de viabilidad celular en respuesta a un rango de concentraciones del extracto (0-10.000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$). Las barras de error indican la desviación estándar de las mediciones. El gráfico muestra tres experimentos realizados en semanas diferentes, con tres réplicas cada uno (n=3, N=3).37
- Figura 5: Ensayo de cicatrización de heridas en células HaCaT tratadas con extractos acuosos de Opuntia ficus-indica y Quercus robur. (a) Imágenes representativas del cierre de la brecha en HaCaT a 0, 24 y 48 h tras tratamiento con extracto de O. ficus-indica (fila superior, líneas amarillas), extracto de Q. robur (fila media, líneas verdes) y control sin tratamiento (fila inferior, líneas azules). (b) Cuantificación del porcentaje de superficie libre en función del tiempo. Las barras de error representan la desviación estándar de tres experimentos independientes con triplicados (n = 3, N = 3). Las diferencias frente al control se evaluaron mediante t-test de Student no apareado (p < 0,05).....38
- Figura 6: Se evaluaron los efectos de Quercus robur L. y Reoxcare sobre el potencial migratorio de la línea celular inmortalizada de queratinocitos humanos (HaCaT) mediante el ensayo de cicatrización de heridas. (a) muestra imágenes representativas del control negativo (C-) y de las células tratadas con diversas concentraciones de extracto de Q. robur y Reoxcare a las 0 y 12 horas. (b) presenta la cuantificación relativa (en porcentajes) de las áreas libres de células en muestras tratadas con concentraciones crecientes de extracto de Q. robur y una concentración fija de Reoxcare durante los mismos intervalos de tiempo. La significación estadística en comparación con el control negativo se determinó mediante una prueba t de Student no pareada de dos colas: *p < 0,05; **p < 0,005.40
- Figura 7: (a) Gráfico de volcanes que muestra las proteínas diferencialmente expresadas (DEP) en células HaCaT tratadas con extracto de Q. robur en comparación con el grupo de control no tratado. El eje X representa el logaritmo en base 2 del cambio en el pliegue de expresión (Log_2 Ratio), y el eje Y representa el logaritmo negativo en base 10 del valor p ($-\text{log}_{10}$ p-value). Los puntos rojos indican las DEPs reguladas al alza, mientras que los puntos verdes representan las DEPs reguladas a la baja. Los puntos grises denotan las proteínas cuya expresión no difirió significativamente entre los grupos. El umbral de significación estadística se fijó en un valor p < 0,01. En total, 96 proteínas mostraron cambios significativos en su expresión, con 21 reguladas al alza y 75 reguladas a la baja. (b) Mapa de calor que muestra las DEPs en células HaCaT tratadas con extracto de Q. robur en comparación con el grupo de control (Ctrl). Los datos de abundancia de proteínas se normalizaron y escalaron después de la agrupación. Se utilizó la correlación de Pearson como función de distancia y se empleó el enlace completo como

método de agrupación. Cada fila representa una proteína y cada columna representa una muestra experimental. Las proteínas se agrupan jerárquicamente en función de sus patrones de expresión. Los colores indican los niveles de expresión relativa: verde para expresión baja, negro para expresión media y rojo para expresión alta. Las muestras de control se etiquetan como «Cont.» y las muestras tratadas como «Trea.». Los dendrogramas de la parte superior e izquierda ilustran las relaciones similares entre las muestras y las proteínas, respectivamente.41

Figura 8: Visualización de la red de interacción proteína-proteína (PPI) utilizando STRING. La red consta de 50 nodos y 71 aristas, con un número esperado de aristas de 8 y un valor p de enriquecimiento de PPI $< 1,0 \times 10^{-16}$, lo que indica una conectividad significativamente mayor de lo esperado. El grado medio de los nodos es de 2,84 y el coeficiente de agrupamiento local medio es de 0,495. La red revela dos grupos principales: uno denso (en rojo) asociado a la desgranulación plaquetaria y otro menos denso relacionado con procesos como la coagulación sanguínea y la respuesta inflamatoria. Estos grupos reflejan las funciones y vías biológicas enriquecidas identificadas.42

Figura 9: Vía de biosíntesis de esteroides en Homo sapiens (hsa00100) que muestra las proteínas sobreexpresadas (rojo) y subexpresadas (verde brillante) cuando las células fueron tratadas con extracto acuoso de Q. robur. La imagen se obtuvo mediante una licencia válida del módulo KEGG del software Proteome Discoverer (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EE. UU.).44

ABREVIATURAS

A continuación, se presenta una tabla con las abreviaturas más relevantes empleadas en esta tesis y su correspondiente descripción:

Abreviatura	Descripción
HaCaT	Línea celular de queratinocitos humanos inmortalizados utilizada para ensayos <i>in vitro</i> de cicatrización
DPPH	Radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo empleado en el ensayo de actividad antioxidante
IC50	Concentración inhibitoria al 50 % (half maximal inhibitory concentration), medida de citotoxicidad o inhibición antioxidante
GAE	Equivalentes de ácido gálico, unidad para expresar contenido de fenoles totales (mg GAE·g ⁻¹ DW)
w/w	Porcentaje peso/peso, relación de masa relativa
UHPLC–DAD–ESI–MS/MS	Cromatografía líquida de ultra alto rendimiento–detector de arreglo de diodos–ionización por electroaspersión–espectrometría de masas en tándem
LC-MS	Cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas, técnica analítica para proteómica
PPI	Interacción proteína–proteína, análisis de redes de interacción
GO	Gene Ontology, vocabulario controlado para anotación de procesos biológicos
TGA	Análisis termogravimétrico, técnica para evaluar estabilidad térmica de muestras
DSC	Calorimetría diferencial de barrido, análisis de transiciones de fase y picos endotérmicos/exotérmicos
FTIR	Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier, para identificación de grupos funcionales
RPMI-1640	Roswell Park Memorial Institute medium 1640, medio de cultivo celular
FBS	Suero fetal bovino, suplementa medios de cultivo celular
PBS	Tampón salino fosfatado (Phosphate-Buffered Saline), para lavado de células
RIPA	RadiolmmunoPrecipitation Assay buffer, tampón para extracción de proteínas
BCA	Ensayo colorimétrico de ácido bicinonónico para cuantificación proteica
ATCC	American Type Culture Collection, proveedor de líneas celulares
ANOVA	Analysis of Variance, prueba estadística para comparar medias de múltiples grupos
FDR	False Discovery Rate, control de tasa de falsos positivos en análisis masivo de datos
DTT	Ditiotreitól, agente reductor utilizado en preparación de muestras proteómicas
m/z	Relación masa/carga de iones en espectrometría de masas

RESUMEN

Las heridas crónicas suponen un reto clínico significativo debido a su elevada incidencia de complicaciones inflamatorias e infecciosas y a la limitada eficacia de los tratamientos convencionales. En este contexto, las especies *Quercus robur* y *Opuntia ficus-indica* han sido empleadas tradicionalmente por sus propiedades astringentes, antiinflamatorias y antioxidantes, posicionándolas como candidatas prometedoras para el desarrollo de terapias tópicas innovadoras.

El objetivo general de esta tesis consistió en desarrollar una formulación farmacéutica piloto basada en la combinación de extractos acuosos de *Q. robur* y *O. ficus-indica*, y evaluar su potencial cicatrizante frente al gel comercial Reoxcare®, en modelos *in vitro*. Para ello, se plantearon objetivos específicos dirigidos a caracterizar la citotoxicidad y el mecanismo pro-migratorio de los extractos en queratinocitos HaCaT, determinar el perfil proteómico tras el tratamiento con *Q. robur*, y diseñar formulaciones de hidrogel y crema que mantuvieran estabilidad físico-química y aceptabilidad sensorial.

Para alcanzar estos fines, se recolectaron hojas de *Q. robur* y cladodios de *O. ficus-indica* en la Región del Biobío, Chile, entre enero de 2021 y enero de 2023. Los extractos se obtuvieron por infusión en agua caliente y maceración en frío con agitación seguida de liofilización. Su caracterización incluyó análisis fitoquímicos cualitativos y cuantitativos, determinación de actividad antioxidante y evaluación de parámetros físico-químicos (pH, densidad). En ensayos *in vitro*, se realizó perfil de citotoxicidad (MTT), cierre de brecha y proliferación celular en HaCaT, seguido de un análisis proteómico LC-MS/MS con bioinformática de rutas celulares. Finalmente, se formularon hidrogeles de carbómero y cremas oil in water (O/W), sometidos a almacenamiento acelerado y panel organoléptico para evaluar estabilidad y aceptación.

Los extractos de *Q. robur* presentaron un rendimiento del 11,1 % y un perfil rico en proteínas (14,9 %) y fenoles (3,2 mg GAE·g⁻¹) con actividad antioxidante (22 % DPPH), mientras que el extracto de *O. ficus-indica* destacó por su elevado contenido de azúcares (88,8 %) y ácidos urónicos (79,9 %), indicativo de un fuerte efecto humectante. En la línea celular HaCaT ambos extractos resultaron no citotóxicos (IC₅₀ de *Q. robur* = 943 µg·mL⁻¹) y, especialmente, *Q. robur* aceleró la migración celular, alcanzando el cierre completo de la brecha a las 24 h y reduciendo el área libre entre un 81% y 83 % tras 12 h, un efecto comparable al del gel comercial Reoxcare®. El análisis proteómico reveló más de 100 proteínas diferencialmente expresadas, destacando la regulación al alza de enzimas de la vía de biosíntesis de colesterol y de procesos de desgranulación plaquetaria. Tanto el hidrogel como las cremas conservaron integridad físico-química y pH adecuado tras tres meses de estrés térmico, y alcanzaron alta aceptabilidad sensorial en textura, olor y color,

Estos hallazgos respaldan la viabilidad de formulaciones tópicas basadas en extractos de *Q. robur* y *O. ficus-indica* como estrategia segura, eficaz y de bajo costo para el tratamiento de heridas crónicas. Se recomienda avanzar hacia estudios *in vivo* en modelos animales, optimizar dosis y vehículos galénicos, y diseñar ensayos clínicos que permitan validar su aplicación terapéutica en humanos.

Palabras clave: *Quercus robur*; *Opuntia ficus-indica*; cicatrización de heridas; actividad antioxidante; Proteómica; formulaciones tópicas.

ABSTRACT

Chronic wounds pose a significant clinical challenge due to their high incidence of inflammatory and infectious complications and the limited efficacy of conventional treatments. In this context, *Quercus robur* and *Opuntia ficus-indica* have been traditionally used for their astringent, anti-inflammatory and antioxidant properties, positioning them as promising candidates for the development of innovative topical therapies.

The primary objective of this thesis was to develop a pilot pharmaceutical formulation based on the combination of aqueous extracts of *Q. robur* and *O. ficus-indica*, and to evaluate its wound-healing potential against the commercial gel Reoxcare® in *in vitro* models. Specific aims included characterizing the cytotoxicity and pro-migratory mechanism of the extracts in HaCaT keratinocytes, determining the proteomic profile following *Q. robur* treatment, and designing hydrogel and cream formulations that maintain physicochemical stability and sensory acceptability.

Leaves of *Q. robur* and cladodes of *O. ficus-indica* were collected in the Biobío Region, Chile, between January 2021 and January 2023. Extracts were obtained by hot-water infusion and cold maceration with agitation, followed by freeze-drying. Characterization comprised qualitative and quantitative phytochemical analyses, antioxidant activity assays, and evaluation of physicochemical parameters (pH, density). *In vitro* studies included MTT cytotoxicity assays, wound-closure and proliferation assays in HaCaT cells, and LC-MS/MS proteomic analysis with subsequent pathway bioinformatics. Finally, carbomer hydrogels and oil in water (O/W) creams were formulated, subjected to accelerated storage, and assessed by an organoleptic panel for stability and sensory acceptance.

Q. robur extracts yielded 11.1 % (w/w) and exhibited a profile rich in proteins (14.9 %) and phenols (3.2 mg GAE·g⁻¹) with 22 % DPPH scavenging activity, while the *O. ficus-indica* extract contained high levels of sugars (88.8 %) and uronic acids (79.9 %), indicative of strong humectant capacity. Both extracts were non-cytotoxic in HaCaT cells (IC₅₀ of *Q. robur* = 943 µg·mL⁻¹). Notably, *Q. robur* accelerated cell migration, achieving complete gap closure at 24 h and reducing the free area by 81–83 % after 12 h—an effect comparable to Reoxcare®. Proteomic analysis identified over 100 differentially expressed proteins, including upregulation of enzymes in the cholesterol biosynthesis pathway and factors involved in platelet degranulation. Both the hydrogel and creams preserved physicochemical integrity and suitable pH after three months of thermal stress and achieved high sensory acceptability in texture, odor and color.

These results support the feasibility of topical formulations based on *Q. robur* and *O. ficus-indica* extracts as a safe, effective and low-cost strategy for chronic wound treatment. Future work should advance to *in vivo* animal models, optimize dosing and galenic vehicles, and design clinical trials to validate therapeutic application in humans.

Keywords: *Quercus robur*; *Opuntia ficus-indica*; wound healing; antioxidant activity; proteomics; topical formulations.

INTRODUCCIÓN

Las heridas pueden clasificarse, en términos generales, en agudas o crónicas, distinguiéndose por sus mecanismos de cicatrización y los tiempos requeridos para su cierre. Además, su categorización depende de la profundidad y la etiología, siendo especialmente desafiantes aquellas úlceras diabéticas, quemaduras extensas, lesiones por radiación, úlceras por presión en estado avanzado y heridas infectadas con bacterias multirresistentes (Cavanagh et al., 2012; Nussbaum et al., 2018; Vowden & Vowden, 2016). Este tipo de lesiones, difíciles de curar, generan un considerable impacto socioeconómico: en Estados Unidos, el costo anual para el tratamiento de heridas crónicas supera los 28 mil millones de dólares, mientras que en Europa se estima que representa entre el 2% y el 4% del presupuesto total destinado a la salud (Nussbaum et al., 2018). En Chile, por ejemplo, el tratamiento de condiciones como la úlcera del pie diabético varía ampliamente según la complejidad del caso; un tratamiento exitoso puede costar entre 102 y 3.959 USD, mientras que un caso que requiera amputación puede ascender de 3.060 a 188.645 USD (Cavanagh et al., 2012).

Actualmente, la falta de tratamientos efectivos para las heridas de difícil manejo es notoria. En Estados Unidos, sólo el tratamiento de úlceras crónicas consume más de 25 mil millones de dólares anuales, cifra que tiende a incrementarse rápidamente debido a factores como el aumento de los costos en la atención médica, el envejecimiento poblacional y la creciente incidencia de diabetes y obesidad en todo el mundo (Sen et al., 2009). En los países con sistemas de salud “desarrollados”, el manejo de las úlceras venosas crónicas representa entre el 1% y el 3% de sus presupuestos anuales. Por su parte, el Instituto Nacional de Heridas reportó que, en 2008, Chile invirtió M\$ 71.482.416 en el tratamiento de estas lesiones, lo que se tradujo en un costo anual estimado por paciente de \$662.223 (Aburto et al., 2017; Aburto & Morgado, 2010).

La cicatrización de una herida cutánea es un proceso biológico dinámico y altamente regulado, que se desarrolla en fases secuenciales superpuestas: inflamatoria, proliferativa (reparación tisular) y de remodelación. Inmediatamente tras la lesión se activa la hemostasia y comienza la fase inflamatoria, marcada por la vasoconstricción transitoria, agregación plaquetaria y reclutamiento de leucocitos al foco de daño (determinando la liberación de citocinas proinflamatorias y factores de crecimiento) (Cañedo-Dorantes & Cañedo-Ayala, 2019; Gurtner et al., 2008). Esta respuesta inicial permite limpiar el tejido necrótico y controlar posibles infecciones. En la fase proliferativa, que le sigue, predominan la formación de tejido de granulación y la reepitelización: los fibroblastos migran y sintetizan matriz extracelular, los queratinocitos proliferan para cubrir la superficie y ocurre angiogénesis para restaurar la vascularización local (Gurtner et al., 2008; Pierce & Mustoe, 1995). Hacia el final de esta fase, los fibroblastos miofibrilares contribuyen a la contracción de la herida reduciendo su tamaño. Finalmente, durante la fase de remodelación, que puede prolongarse por meses, la matriz extracelular depositada se reorganiza y madura: el colágeno tipo III inicial es degradado y reemplazado por colágeno tipo I más resistente, disminuye la celularidad del tejido de granulación y aumenta la alineación de fibras de colágeno, lo que confiere mayor resistencia tensil a la cicatriz resultante (Han & Ceilley, 2017). Este tejido cicatricial, sin embargo, no recupera la fuerza ni elasticidad originales de la piel indemne (alcanza típicamente ~70–80% de la resistencia original) y carece de anexos cutáneos (Gurtner et al., 2008; Han & Ceilley, 2017). Un equilibrio preciso de los mediadores inflamatorios y reparadores en cada etapa es crucial; alteraciones en este complejo entramado (por ejemplo, por isquemia, infecciones o enfermedades metabólicas) pueden derivar en retraso de la cicatrización, formación de cicatrices hipertróficas o incluso heridas crónicas de difícil cierre (Nourian Dehkordi et al., 2019; Yahata et al., 2006). En efecto, las heridas crónicas (como úlceras diabéticas o venosas) suelen quedar estancadas en la fase inflamatoria y muestran un desequilibrio en la actividad de células y citoquinas, lo que impide la progresión ordenada hacia la reparación (Han & Ceilley, 2017; L. Zhang et al., 2019). Por el contrario, en condiciones ideales (p. ej., en tejido fetal o en ciertos modelos animales) la cicatrización puede darse de forma

regenerativa y sin formación de cicatriz, lo que subraya la importancia de los mecanismos moleculares finamente orquestados durante todo el proceso (Gurtner et al., 2008).

El manejo inicial de las heridas se fundamenta en estrategias básicas, tales como mantener la lesión limpia, húmeda y protegida mediante apósitos oclusivos, lo que favorece un proceso de cicatrización más eficiente. En el mercado actual se dispone de una amplia variedad de productos para el tratamiento de heridas crónicas, entre los que se incluyen apósitos avanzados, agentes antimicrobianos y terapias de presión negativa (Vowden & Vowden, 2016). Por ejemplo, los apósitos de hidrogel han demostrado su eficacia gracias a sus propiedades biodegradables, adhesivas y bioactivas, facilitando la regeneración tisular en lesiones difíciles de curar (Firlar et al., 2022).

No obstante, la eficacia de estas alternativas no es universal y, en numerosos casos, están asociadas a elevados costes y efectos secundarios. Esta situación ha motivado la exploración de otras estrategias terapéuticas. En este sentido, se han desarrollado enfoques basados en factores de crecimiento, tales como el factor derivado de plaquetas (PDGF-BB), el epidérmico (EGF), el de fibroblastos (FGF-2) y el factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos (GM-CSF), los cuales han demostrado eficacia en el proceso de cicatrización (Sun et al., 2014). Sin embargo, dado que las vías fisiopatológicas de la cicatrización y la tumorigénesis comparten ciertos mecanismos, la aplicación de factores de crecimiento mitógenos conlleva riesgos importantes. Por ejemplo, estudios previos han evidenciado estos riesgos (Arwert et al., 2012; Flier et al., 1986) y, en 2008, la FDA alertó sobre el potencial riesgo de inducción de cáncer asociado al uso tópico de PDGF-BB (Becaplermin), lo que destaca una de las principales limitaciones de las terapias basadas en factores de crecimiento.

Ante estos desafíos y en un contexto en el que se requiere reducir los costes del tratamiento y mejorar el perfil de seguridad, los productos de origen vegetal han emergido como una alternativa atractiva. Los extractos de plantas, con su diversidad de compuestos bioactivos y su extenso historial en la medicina tradicional, ofrecen ventajas significativas, tales como un bajo coste, amplia disponibilidad y un perfil de seguridad generalmente favorable (Chevallier, 2016; Ríos & Recio, 2005). Por ejemplo, los extractos de té verde (*Camellia sinensis*) han demostrado beneficios en la reducción del colesterol LDL y en la mejora de la función endotelial (Zamani et al., 2023). Asimismo, la curcumina, derivada de la cúrcuma (*Curcuma longa*), no solo exhibe propiedades antiproliferativas y antiinflamatorias en contextos de cáncer y artritis reumatoide (Tanase et al., 2023), sino que, aplicada en forma de apósito, ha mostrado resultados prometedores en el tratamiento de úlceras neuroisquémicas de gran tamaño y de difícil cicatrización.

Numerosas investigaciones han explorado las propiedades medicinales de los productos de origen vegetal con el fin de desarrollar nuevos fármacos capaces de sustituir o complementar tratamientos que, en la actualidad, implican altos riesgos y costes para los pacientes. Las plantas sintetizan una amplia variedad de compuestos bioactivos, muchos de los cuales se han empleado con resultados prometedores en diversas prácticas clínicas (Harvey, 2008; Rishton, 2008; Thomford et al., 2018; Yeung et al., 2018). En este contexto, destacan dos especies vegetales: *Quercus robur* y *Opuntia ficus*, las cuales han sido tradicionalmente utilizadas para tratar diversos problemas de salud y cuyos componentes han sido objeto de estudio en investigaciones recientes. A continuación, se expone el estado del arte relativo a estas dos especies.

Características y antecedentes relacionados al tratamiento de heridas de las especies vegetales de los géneros *Quercus* y *Opuntia*.

El Género *Quercus*: Uso Tradicional y Evidencia Científica.

El género *Quercus*, perteneciente a la familia Fagaceae, ha sido históricamente valorado en la medicina tradicional por su riqueza en compuestos fenólicos, principalmente taninos y flavonoides, que le confieren propiedades antioxidantes, antimicrobianas y antiinflamatorias (Drózdź & Pyrzynska, 2018; Salem et al., 2016; Vong et al., 2018). En particular, la corteza de diversas especies de *Quercus* ha recibido especial atención debido a su abundancia, al bajo costo asociado a los residuos madereros y a su amplia utilización en formulaciones tradicionales para tratar afecciones como la diarrea, las inflamaciones y las lesiones cutáneas (Adrian Nisca et al., 2024; Drózdź & Pyrzynska, 2018; O. Elansary et al., 2019).

Con aproximadamente 450 especies distribuidas a nivel mundial, el género presenta notables variaciones en morfología y composición química (Barta et al., 2017; O. Elansary et al., 2019; Sánchez-Burgos et al., 2013). Entre estas, *Quercus robur* L., conocido comúnmente como roble, destaca por su amplia distribución en Europa, Asia y América del Norte, y por su empleo en el tratamiento de condiciones gastrointestinales y procesos inflamatorios (E. M. Ahmed, 2015). La relevancia farmacoterapéutica de *Q. robur* está reconocida oficialmente, tal como lo evidencia su inclusión en la base de datos de plantas medicinales de la Agencia Europea de Medicamentos (EMA/HMPC/3206/2009) y su descripción en la Farmacopea Europea, que establece la necesidad de un contenido mínimo del 3% de taninos expresados como pirogalol (EDQM, 2017).

La corteza de *Q. robur* se caracteriza por la presencia significativa de taninos, tanto hidrolizables como condensados, cuyos rangos de concentración oscilan entre el 8% y el 20%. Estos taninos comprenden ésteres de galol y sus derivados, como galotaninos, elagitaninos y taninos complejos, además de proantocianidinas oligoméricas y poliméricas, presentando diversos patrones de acoplamiento y sustitución (Niemetz R., 2005; Bobinac M.T., 2012). Los compuestos fenólicos presentes han demostrado amplias actividades biológicas, destacándose sus efectos antioxidantes, antibacterianos y antiinflamatorios (Adrian Nisca et al., 2024; Chokpaisarn et al., 2017; Mady et al., 2023; Taib et al., 2020).

Estudios recientes aportan evidencia científica que respalda el uso de extractos de *Quercus robur* en el tratamiento de heridas y afecciones cutáneas. Se ha documentado que, gracias a su composición química, la corteza de este roble ejerce efectos astringentes, empleados tradicionalmente en infusiones para el tratamiento de úlceras, dolor de muelas, heridas, neuralgias y reumatismo (Allen and Hatfield, 2004), y promueve la formación de una capa protectora que facilita la reparación de tejidos dañados. Diversos ensayos clínicos han evaluado la aplicación tópica de extractos de *Quercus*, evidenciando resultados prometedores en el tratamiento de úlceras diabéticas y otras lesiones cutáneas (Chokpaisarn et al., 2017, 2020; Jacobs & Tomczak, 2008; Zibanejad et al., 2020)

Además de *Q. robur*, otras especies del género, como *Q. coccifera*, *Q. infectoria*, *Q. lusitanica*, *Q. cerris*, *Q. brantii* y *Q. macrolepis*, han sido objeto de estudios que han identificado sus perfiles fitoquímicos y sus actividades biológicas, en particular sus propiedades antioxidantes, antimicrobianas y antiinflamatorias (Karioti et al., 2009; Kazmi et al., 2018; Şöhretoğlu & Renda, 2020; Yang et al., 2015). Ensayos *in vivo* con extractos acuosos de *Quercus infectoria* han demostrado efectos beneficiosos en la cicatrización de heridas, evidenciándose un incremento en la tasa de cierre y mejoras en parámetros como la angiogénesis y la formación de colágeno, en comparación con tratamientos convencionales (Anlas et al., 2019; Banc et al., 2023; Uyar et al., 2023). La regulación de factores angiogénicos como el VEGF sugiere además una mejora en la irrigación, aportando nutrientes y oxígeno al tejido en reparación (Dardmah & Farahpour, 2021).

Una revisión de la literatura pone de manifiesto la ausencia de reportes que aborden específicamente los mecanismos moleculares subyacentes al efecto cicatrizante de *Q. robur*, lo que representa una oportunidad significativa para profundizar en el estudio de su potencial terapéutico.

Ensayos clínicos destacados

Entre los ensayos clínicos realizados destacan la evaluación de Bensa HP en el tratamiento de úlceras del pie diabético (Jacobs & Tomczak, 2008)., el estudio del efecto curativo de un ungüento a base de *Quercus persica* y *Lawsonia inermis* sobre heridas de episiotomía en mujeres primíparas (Zibanejad et al., 2020) y un ensayo clínico aleatorizado que utilizó un extracto etanólico tópico de *Quercus infectoria* para tratar úlceras diabéticas crónicas (Chokpaisarn et al., 2020).

Quercus robur es una fuente de compuestos bioactivos de alto potencial terapéutico, cuyas propiedades se pueden integrar en estrategias modernas de cicatrización que combinan la tradición medicinal con la validación científica actual. A continuación, se presenta un resumen de los principales compuestos caracterizados en extractos de diferentes especies del género *Quercus* (Tabla 1) y los potenciales usos terapéuticos reportados (Tabla 2):

Tabla 1: Componentes de extractos herbales de *Quercus spp.*

Componentes	Referencias
Taninos hidrolizables	(Haslam, 2007; Mauffette & Oechel, 1989; Okuda, 2005)
Taninos condensados (proantocianidinas)	(Haslam, 2007; Mauffette & Oechel, 1989; Okuda, 2005)
Triterpenos	(Coquet et al., 2008; Sousa et al., 2006)
Poliésteres lípidos insolubles (suberina)	(Graça & Santos, 2007)
Ácidos volátiles (acético, fórmico)	(Balaban & Uçar, 2003)

Tabla 2: Acción terapéutica reportada para preparaciones herbales de *Quercus spp.*

Actividad	Referencias
Astringente, venotónico y hemostático (corteza de <i>Quercus alba</i> L.)	(Romm, 2017)
Tratamiento de colitis, estomatitis, dolores de parto, obesidad, enfermedades laringofaríngeas, estreñimiento, diarrea y furúnculos (bellota de <i>Quercus acutissima</i> Carr.)	(H. Kim et al., 2006; MOON et al., 2013)
Efectos astringentes; tratamiento de amigdalitis y de infecciones de la garganta; alivio de enfermedades cutáneas crónicas (eczema, várices); tratamiento digestivo (diarrea, indigestión, dolor estomacal, anemia, raquitismo, tuberculosis); tónico estomacal y detención de hemorragias; tratamiento de tos, úlceras bucales y gástricas (preparaciones a base de hojas, corteza, bellota y galos de <i>Quercus brantii</i> Lindl.)	(Dolatkahi et al., 2014; H. Kim et al., 2006; Mosaddegh et al., 2012)
Uso en forma de bebida, alivio de la inflamación de la garganta, cicatrización de heridas en el ganado, preparación de té para trastornos femeninos, aplicación tópica (ungüento) para heridas, acción diurética, tratamiento de hemorroides, inflamación intestinal, psoriasis, adelgazamiento y uso como forraje (bellota y corteza de <i>Quercus cerris</i> L.)	(Guarrera et al., 2005; Šarić-Kundalić et al., 2010; Sousa et al., 2006)
Utilización como forraje y verdura silvestre; efecto astringente; tratamiento de enuresis; manejo de metritis, gingivitis, dermatitis, diarrea, enfermedades vaginales, tos e hipertensión (preparaciones a base de hojas, galos y bellota de <i>Quercus coccifera</i> L.)	(El-Darier & El-Mokasabi, 2014; Kargioğlu et al., 2010; Tardío et al., 2005)

Actividad	Referencias
Acción como tónico cerebral y sexual; empleado para limpieza dental; erradicación de gonorrea e infecciones urinarias (según zona de Swat); tratamiento de irritación en boca y garganta (con efecto astringente y diurético, según Lawat); tratamiento de diarrea, menorragia y trastornos gastrointestinales (preparaciones a base de bellota, hojas, corteza, madera y flores de <i>Quercus dilatata</i>)	(M. Ahmed et al., 2017; Hussain et al., 2006; Maryam et al., 2012)
Tratamiento de disentería y diarrea (galo de <i>Quercus dentata</i> Thunb.)	(MOON et al., 2013)
Uso estético (para cabello y encías) y preparación de bebida tónica (tipo café) además de forraje (preparaciones a base de galo y semillas tostadas de <i>Quercus ilex</i> L.)	(Di Novella et al., 2013; Sarri et al., 2014)
Acción astringente, diurética y antidiarreica; tratamiento del asma; efectos antipiréticos, antirreumáticos, antidiabéticos y antiartríticos; manejo de trastornos gastrointestinales y de las inflamaciones de las mucosas (oral, genital, anal) y de la piel; usos en problemas musculoesqueléticos (preparaciones a base de hojas, corteza, bellota y madera de <i>Quercus incana</i> Roxb.)	(Sarwar et al., 2015, 2018; Zehra et al., 2019)
Propiedades astringentes; tratamiento de la diabetes; restauración de la elasticidad de la pared uterina; manejo de trastornos inflamatorios; tratamiento de infecciones en heridas postparto; alivio del dolor dental y gingivitis; acción antiséptica, antistomatítica, desodorante, desecante, expectorante y estíptica; tónico para dientes y en cicatrización de heridas (galo de <i>Quercus infectoria-Olivier</i>)	(W. Ahmad et al., 2011; Hapidin et al., 2015)
Tratamiento de infecciones urinarias, alivio del dolor dental y de hemorroides; efecto astringente; manejo de diarrea y dolor estomacal; tratamiento de gonorrea, asma, hemorragias, disentería y trastornos digestivos; acción diurética y tratamiento de mordeduras de serpiente (preparaciones a base de bellota, hojas y corteza de <i>Quercus leucotrichophora</i> A. Camus)	(Chauhan et al., 2017; Joshi & Juyal, 2017; Uniyal & Shiva, 2005)
Tratamiento de la diabetes y de la diarrea (preparaciones a base de hojas y corteza de <i>Quercus robur</i> L.)	(Neves et al., 2009)

El Género *Opuntia*: Distribución, Composición Química y Aplicaciones Terapéuticas

El género *Opuntia* está conformado por más de 300 especies distribuidas globalmente, predominando en zonas áridas y semiáridas, y ha sido tradicionalmente empleado en aplicaciones medicinales, cosméticas y alimentarias, tanto para consumo humano como animal (Stintzing & Carle, 2005). Este género se caracteriza por una amplia diversidad de compuestos químicos, entre los que se incluyen minerales (sodio, cobre, manganeso, magnesio, calcio, zinc y hierro), azúcares, ácidos orgánicos (oxálico, málico, cítrico, malónico, succínico, tartárico, fórbico y eucómico), una variedad de aminoácidos y aminas—destacándose la presencia de más de 18 aminoácidos, entre ellos glutamina, valina y serina—, lípidos, terpenos, vitaminas (como la C, B₁, riboflavina, β -caroteno y clorofila) y un elevado contenido de constituyentes fenólicos y flavonoides (Blando et al., 2019; MI Hernández-Urbiola, 2011).

Los extractos de *Opuntia* han sido empleados en la medicina tradicional de América, Europa y África. Su uso se ha extendido al tratamiento de diversas condiciones, tales como gastritis, fatiga, disnea, trastornos metabólicos, daño hepático e, notablemente, lesiones cutáneas (Stintzing & Carle, 2005). En este sentido, los compuestos fenólicos presentes en estas especies han demostrado actividad antioxidante celular (Guevara-Figueroa et al., 2010). Se ha evidenciado, por ejemplo, que la quercetina desempeña un papel fundamental en la protección neuronal frente a los daños causados por peróxidos y xantina oxidasa (Dok-Go et al., 2003) y que la alta capacidad hidratante de estos extractos, probablemente relacionada con su composición rica en carbohidratos (ácido galacturónico, glucosa, ramnosa y arabinosa), sugiere un mecanismo humectante (De Azevedo Ribeiro et al., 2015).

Asimismo, extractos de *Opuntia* han mostrado propiedades antiinflamatorias y analgésicas comparables a las del ácido acetilsalicílico (E. H. Park & Chun, 2001). La reducción de la inflamación aguda se ha relacionado con una disminución en la migración leucocitaria, sin los efectos adversos frecuentemente asociados a los

antiinflamatorios no esteroideos. Galati y colaboradores identificaron que el beta-isosterol es el principal compuesto responsable de acelerar la reparación de heridas, al combinar la inhibición del proceso inflamatorio con la estimulación de la migración fibroblástica, la rápida formación de colágeno y la angiogénesis (Galati et al., 2002; Ghosh & Gaba, 2013).

Por otra parte, se ha reportado una potente actividad antiviral contra el herpes virus en extractos de este género, aunque el mecanismo proteico subyacente aún no ha sido esclarecido (A. Ahmad et al., 1996). Además, se han investigado otras propiedades, tales como actividad anticancerígena, antilipídica y antidiabética (Blando et al., 2019; Stintzing & Carle, 2005), para las cuales existe evidencia en diversos estudios clínicos (M. del S. S. Díaz et al., 2017). Sin embargo, en lo que respecta al tratamiento de heridas, la evidencia clínica es limitada; los estudios disponibles se han realizado en modelos preclínicos (rata y cobayo) en los que se han evaluado extractos, distintas fracciones y combinaciones de *Opuntia ficus-indica* con extractos de otras especies vegetales, mostrando resultados prometedores en el proceso de cicatrización (Gómez, 2017; E. H. Park & Chun, 2001; Trombetta et al., 2006; Vílchez Cáceda et al., 2020)

A continuación, se ofrece un resumen de los principales compuestos identificados en los extractos de diversas especies del género *Opuntia* (Tabla 3) y de los potenciales usos terapéuticos descritos (Tabla 4):

Tabla 3: Componentes encontrados en extractos herbales de *Opuntia* spp.

Componentes	Referencias
Minerales	(Stintzing & Carle, 2005)
Azúcares	(Stintzing & Carle, 2005)
Ácidos orgánicos	(Stintzing & Carle, 2005)
Aminoácidos y aminos	(Stintzing & Carle, 2005)
Lípidos y terpenos	(Matthäus & Özcan, 2011; Stintzing & Carle, 2005)
Vitaminas, carotenoides y clorofila	(Matthäus & Özcan, 2011; Stintzing & Carle, 2005)
Constituyentes fenólicos	(Stintzing & Carle, 2005)
Mucilago y pectina	(Stintzing & Carle, 2005)

Tabla 4: Potenciales usos terapéuticos descritos de *Opuntia* spp.

Actividad	Referencia
Heridas	(Hosein Farzaei et al., 2014)
Acción dermoprotectora	(Deters et al., 2012)
Actividad neuroprotectora	(J.-H. Kim et al., 2006)
Efecto diurético	(Galati et al., 2002)
Actividad gastroprotectora	(Galati et al., 2002)
Efecto antitóxico y antioxidante	(Saoudi et al., 2011)
Atenuador de síntomas de menopausia	(Ko et al., 2014)

Actividad antibacteriana	(Sharma et al., 2017)
Hipoglicemiante e hipolipemiante	(Ennouri et al., 2006)

Estudios recientes sugieren que los compuestos derivados de plantas pueden modular procesos celulares clave, como la migración y la proliferación, que son fundamentales para la reparación de heridas (Morton & Phillips, 2016). Sin embargo, los mecanismos moleculares que subyacen a los efectos terapéuticos de *O. ficcus* y *Q. robur* en la cicatrización de heridas siguen siendo poco conocidos. Los enfoques proteómicos pueden ofrecer una poderosa herramienta para dilucidar estos mecanismos mediante la identificación de cambios en la expresión de proteínas y vías funcionales en respuesta al tratamiento. Investigaciones que han utilizado este enfoque, han informado, por ejemplo, que la quercetina, uno de los compuestos activos de *Q. robur*, puede regular la síntesis de colesterol (M. Zhang et al., 2016). Este lípido es un componente esencial de las membranas celulares y un precursor de moléculas bioactivas que modulan la señalización celular, las respuestas inflamatorias y la diferenciación celular (Luo et al., 2020; Luu et al., 2016). Además, el colesterol puede modificar proteínas de la vía Hedgehog, en particular la proteína Smoothed, que coordina los procesos de proliferación y diferenciación necesarios para la correcta cicatrización de heridas (Kuzu et al., 2016; Luo et al., 2020; Porter et al., 1996). En condiciones fisiológicas normales, el metabolismo del colesterol se equilibra a través de la biosíntesis, la absorción, la exportación y la esterificación; sin embargo, en patologías como la diabetes mellitus, este equilibrio se altera, favoreciendo la hiperlipidemia y afectando negativamente a la reparación de heridas (Chokpaisarn et al., 2017; Qin et al., 2024; Velnar et al., 2009). Del mismo modo, los esteroides y la angiostatina actúan sobre las células endoteliales para desencadenar la mitosis, promover la migración celular y estimular la liberación de factores de crecimiento endotelial (Velnar et al., 2009). Estos hallazgos indican que la modulación de la síntesis de colesterol podría desempeñar un papel crucial en los procesos de cicatrización de heridas; sin embargo, ningún estudio ha abordado aún de forma exhaustiva el papel del colesterol en este proceso.

Características de los productos para el tratamiento de heridas.

Los sistemas de administración de fármacos, para el tratamiento de heridas, son de particular importancia ya que problemas en la vascularización en el lecho de la herida puede evitar la administración eficaz de un principio activo (PA) al tejido en cicatrización. Además, otros factores como, la baja vida media de los factores biológicos y la dinámica del entorno de la herida, requieren sistemas de administración de fármacos que puedan administrar PAs en la dosis adecuada y en el lugar adecuado (Boateng et al., 2008; Saghazadeh et al., 2018). Otros factores para maximizar el bienestar y los resultados de los pacientes son el dolor y los factores relacionados con el tratamiento, como la disminución de la frecuencia de los cambios de apósitos y la reducción de los costos asociados al cuidado de las heridas (Frykberg & Banks, 2015), uno de los principales objetivos de los productos farmacéuticos para el tratamiento de heridas es prevenir la infección bacteriana, limitando la morbilidad por infección y posiblemente erradicando el patógeno (Bowler et al., 2001; Queen et al., 2004). Los productos más utilizados para el tratamiento de heridas son los apósitos, los que existen en un amplia variedad de formas y materiales (gasa, película fina, espuma, hidrogeles, hidrocoloides y membranas), cada uno de los cuales es adecuado para el tratamiento de un tipo de herida específico (Saghazadeh et al., 2018) por lo que presentan ventajas y desventajas a la hora de evaluar diferentes alternativas de tratamiento, una síntesis de estos aspectos se presenta en la Tabla 5 (Han & Ceilley, 2017).

Tabla 5: Apósitos para heridas actualmente disponibles.

Tipo de apósito	Productos disponibles comercialmente	Ventajas y Desventajas
Gasa	Curity, gasa de vaselina, Xeroform	De bajo costo, seco, puede causar más lesiones al cambiar
Películas	Bioclusiv, Blisterfilm, Cutifilm, Flexigrid, OpSite, Tegaderm	Oclusivo, retiene la humedad, solo para heridas no exudativas
Hidrocoloides	Aquacel, Comfeel, DuoDERM, Granuflex, Tegasorb	Tiempos prolongados entre cambios, atrapamiento de líquido, oclusivo, no para heridas infectadas
Hidrogeles	Carrasyn, Curagel, Nu-Gel, Purilon, Restore, SAF-gel, XCell	Rehidrata heridas secas, fácil remoción / cambio, puede causar sobrehidratación
Espumas	Espuma adhesiva 3M, Allevyn, Lyofoam, Tielle	Moderadamente absorbente, aislante
Alginatos	Algisita, Kaltostat, Sorbsan, Tegagen	Altamente absorbente, hemostático
Hidrofibras	Hidrofibra Aquacel	Muy absorbente
Sustitutos de piel de ingeniería tisular	Alloderm, Apligraf, Biobrane, Bioseed, Dermagraft, Epicel, EZ Derm, Hyalograft, Integra Omnigraft, Laserskin, Myskin, TransCyte	Aborda factores de crecimiento deficientes y citocinas, costosos, riesgo de infección, antigenicidad

Fuente: Elaboración propia a partir de Chronic Wound Healing: A Review of Current Management and Treatments (Han & Ceilley, 2017).

Los hidrocoloides y los hidrogeles aprovechan un material hidrófilo que absorbe una cierta cantidad de exudado, pero mantiene un ambiente húmedo; Además, los hidrocoloides son impermeables al aire y algo más duraderos, pero no deben usarse en heridas exudativas debido a su naturaleza impermeable. Los hidrogeles también pueden usarse para ayudar a promover la humedad en una herida que de otro modo estaría seca (Han & Ceilley, 2017). Los hidrogeles son matrices poliméricas tridimensionales hidrófilas que pueden absorber e hincharse con agua sin disolverse (E. M. Ahmed, 2015; Kopeček, 2002), existen tres categorías distintas de hidrogeles: los hidrogeles naturales que a menudo se componen de cadenas de polisacáridos, como quitosano (Lajud et al., 2015), celulosa (Qiu & Hu, 2013) y ácido hialurónico (Lam et al., 2014), o cadenas de proteínas como el colágeno (Antoine et al., 2014), los hidrogeles sintéticos que consisten en polímeros, tales como polietilenglicol (Zhu, 2010) y poliácridamida (Cruz-Acuña & García, 2017) y un tercer grupo, los hidrogeles híbridos, que están compuestos por una combinación de polímeros naturales y sintéticos (Harrison & Spada, 2018). Los hidrogeles naturales y sintéticos tienen sus ventajas y desventajas tales como hidratación y fácil remoción de la herida, sin embargo, puede causar sobrehidratación.

Patentes sobre aplicaciones médicas y dermatológicas relacionadas a *Quercus robur* y *Opuntia ficus-indica*

La investigación en la aplicación de extractos vegetales en formulaciones terapéuticas ha generado diversas patentes en las últimas décadas. En este sentido, se han identificado varias patentes que abordan el uso de extractos de *Quercus* y *Opuntia* en productos con fines médicos y dermatológicos.

La compañía francesa VitroBio Sarl, patentó una composición tópica que combina glicerol y taninos vegetales, utilizando extracto de agallas de *Quercus infectoria*, para formar una película osmótica protectora (Shrivastava et al., 2013). Esta formulación se diseña para el tratamiento de infecciones cutáneas y mucosas, incluidas lesiones por herpes y úlceras derivadas de radioterapia, aprovechando la prolongación de la acción del glicerol sobre la piel y las mucosas. La patente PCT (PCT/EP2013/061835) derivó en la concesión de la patente US10335364 en 2019, y los titulares han desarrollado el spray oral Orosol® como un dispositivo médico para la mucositis oncológica, evidenciando su comercialización (VitroBio Sarl, 2013). Otra patente relevante describe una crema

antiviral contra el herpes labial/genital, en la que se combina el extracto de agallas de *Quercus infectoria* con otros fitocomponentes, tales como fenogreco, *Hamamelis* y *Pueraria*. Los ensayos de esta formulación evidenciaron un efecto sinérgico, alcanzando hasta un 93% de reducción de la actividad del virus del herpes simple (VHS) sin efectos citotóxicos (HARVEN SA & DARIO, 2015), lo que respalda el uso potencial de taninos de *Quercus* en aplicaciones dérmicas antivirales.

En paralelo, la empresa italiana Bionap Srl, obtuvo la patente US9028883 para una composición antihemorroidal a base de polisacáridos extraídos de *Opuntia ficus-indica* (cladodios) combinados con antioxidantes de origen vegetal (extracto de hoja de olivo, capullos de *Capparis* y antocianinas de cítricos) (RIZZA et al., 2010). Esta formulación tiene como objetivo la prevención y terapia de la enfermedad hemorroidal, pudiendo administrarse de forma tópica u oral, y se basa en las propiedades antiinflamatorias y protectoras del mucílago del nopal. A pesar de que se orienta al mercado farmacéutico y nutracéutico, no se ha confirmado la circulación de un nombre comercial específico. Adicionalmente, en el ámbito de la dermatología, se ha evidenciado el uso de extracto de *Opuntia* como ingrediente hidratante en cosméticos destinados a reparar la piel dañada por frío (KUM et al., 2009). Estudios preclínicos han demostrado el potencial cicatrizante de *Opuntia* en quemaduras de segundo grado, lo que respalda su inclusión en formulaciones para el tratamiento de dermatitis inducida por bajas temperaturas (RIZZA et al., 2010).

Patentes Combinando *Quercus* y *Opuntia*

Las patentes que combinan exclusivamente extractos de *Quercus* y *Opuntia* son escasas. Una invención de origen chino (HONGQIANG et al., 2018) habría propuesto una fórmula herbal para el tratamiento de la perniois, en la que se integran los efectos astringente y antiséptico del roble con la acción antiinflamatoria e hidratante del nopal. De modo general, las principales oficinas internacionales de patentes (WIPO, USPTO, EPO) evidencian desarrollos focalizados de forma separada en el uso de taninos de *Quercus* y polisacáridos de *Opuntia* para aplicaciones antivirales, cicatrizantes y antiinflamatorias, lo que sugiere que la estrategia combinatoria en el ámbito terapéutico ha sido relativamente poco explorada en patentes públicas recientes.

A partir de los antecedentes presentados, se plantea que ambos extractos vegetales exhiben propiedades bioactivas y farmacológicas fundamentadas en mecanismos de acción distintos, lo que respalda su potencial terapéutico en el tratamiento de diversas afecciones dermatológicas, incluidas las heridas. Asimismo, se postula que la formulación combinada de extractos de *Quercus* u *Opuntia* podría generar una sinergia que potencie de manera significativa las propiedades bioactivas individuales, constituyéndose en un candidato prometedor para el desarrollo de una formulación tópica eficiente en el manejo y la cicatrización de lesiones cutáneas.

HIPOTESIS DE TRABAJO:

En base a antecedentes preliminares obtenidos durante el proyecto “Athymia: biofármaco de uso tópico para el tratamiento de heridas complejas por segunda intención” perteneciente a la cartera de proyectos de la Plataforma INN BIO de la UdeC, se optimizaron los procesos de extracción de compuestos bioactivos de ambos extractos utilizando material vegetal obtenido en la comuna de San Carlos (Región del Biobío) de dos especies vegetales, *Opuntia ficus indica* y *Quercus robur*. Para el caso de *Quercus*, a diferencia de los estudios bibliográficos que usan extracto de corteza, se utilizaron extractos de hojas, los cuales se caracterizaron analíticamente corroborando la presencia de los compuestos descritos para cada extracto. Adicionalmente se evaluaron diferentes combinaciones de ambos extractos sobre modelos *in-vitro*, *in-vivo* y algunos casos en humanos, donde se observó una posible optimización referente a los extractos individuales, sin embargo, es necesario realizar más experimentos a fin de dilucidar una sinergia real entre ambos extractos. En base a estos antecedentes se plantea la siguiente hipótesis:

Se plantea que la aplicación tópica combinada de extractos acuosos de *Quercus robur* y *Opuntia ficus-indica* favorece la cicatrización de heridas crónicas mediante la modulación sinérgica de procesos celulares críticos, como la migración y proliferación de queratinocitos, y la regulación de vías metabólicas esenciales. Adicionalmente, los extractos aportan propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y antimicrobianas, lo que contribuye a crear un microambiente favorable para la regeneración tisular. En conjunto, se postula que el desarrollo piloto de un producto tópico basado en esta formulación integrada constituirá una estrategia terapéutica prometedora, de bajo costo y con un perfil de seguridad favorable para el manejo de heridas, superando las limitaciones de los tratamientos convencionales.

OBJETIVO GENERAL Y OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

El Objetivo General es desarrollar una formulación farmacéutica piloto, basada en la combinación de extractos bioactivos de especies vegetales de los géneros *Opuntia* y *Quercus*, evaluar *in vitro* su potencial cicatrizante a nivel preclínico y en comparación con Reoxcare (extracto de cúrcuma). Para lo cual se han planteado los siguientes objetivos específicos:

Objetivos Específicos:

1. Evaluar *in vitro* el potencial cicatrizante y el mecanismo de acción molecular de extractos acuosos de *Quercus robur* y *Opuntia ficus-indica* en queratinocitos humanos.
 - a. Establecer el perfil de citotoxicidad de extractos acuosos de *Quercus robur* y *Opuntia ficus-indica* en la línea celular de queratinocitos HaCaT, mediante ensayos MTT para definir el rango de concentraciones seguro y eficaz.
 - b. Investigar el efecto de los extractos sobre la migración celular y la tasa de cierre utilizando ensayos *in vitro* de cicatrización para comparar el desempeño del extracto frente a controles y productos comerciales existentes.
 - c. Evaluar la eficacia de los extractos frente a un producto tópicos comercial considerando migración, proliferación celular y otros parámetros asociados al proceso de cicatrización, con el fin de identificar una potencial ventaja terapéutica.
2. Determinar el perfil de proteínas diferencialmente expresadas en queratinocitos HaCaT tras el tratamiento con el extracto de *Quercus robur* para esclarecer los mecanismos celulares y metabólicos involucrados en la cicatrización.
 - a. Diseñar y ejecutar un experimento de proteómica cuantitativa mediante LC-MS/MS en muestras de HaCaT tratadas.
 - b. Realizar análisis bioinformático de los datos proteómicos para identificar rutas y procesos biológicos enriquecidos (p. ej., migración celular, biosíntesis de colesterol).
3. Desarrollar y evaluar formulaciones piloto de Hidrogel y Crema que logren preservar la estabilidad físico-química y la aceptabilidad sensorial de las formulaciones.
 - a. Diseñar y ejecutar un protocolo de almacenamiento acelerado a 45 °C, 60 °C y ciclos de congelación–descongelación durante 3 meses. Evaluar separación de fases, pH y viscosidad, comparándolos contra los datos iniciales para identificar cambios en la integridad de la emulsión o gel.
 - b. Validación organoléptica con panel ampliado: Conformar un panel de evaluadores entrenados y aplicar una prueba de preferencia para textura, olor, absorción y color. Analizar mediante encuesta estructurada la aceptabilidad general.

METODOLOGÍA:

A continuación, se describe el enfoque experimental adoptado para validar la hipótesis de trabajo. En primer lugar, se detalla el proceso de obtención, caracterización y estandarización de los extractos acuoso de hojas de *Quercus robur* y cladodios de *Opuntia ficus-indica* incluyendo criterios de recolección, extracción y liofilización. Seguidamente, se presentan las metodologías utilizadas en ensayos *in vitro* de citotoxicidad, de migración y proliferación celular sobre la línea HaCaT. Finalmente se expone el método de análisis proteómico, incluyendo la identificación y cuantificación de proteínas diferencialmente expresadas, y un análisis de redes de interacción y vías metabólicas.

Extractos Vegetales utilizados en el estudio:

Quercus robur L. es un árbol perteneciente a la familia Fagaceae y *Opuntia ficus-indica* L. es una planta arbustiva perteneciente a la familia Cactaceae, ambas especies fueron descritas por Carlos Linneo y publicado en 1753 (C. Linnaeus, 1753).

En este estudio se obtuvieron extractos acuosos de hojas de *Quercus robur* y cladodios de *Opuntia ficus-indica* recolectadas entre enero de 2021 y enero de 2023 en la comuna de San Carlos, región del Bío Bío, Chile. Las hojas y cladodios seleccionados estaban completamente desarrollados y en buenas condiciones, evitando aquellos con signos de enfermedad, daño por insectos, moho o decoloración.

Obtención de Extractos Acuosos de Hoja de *Quercus robur*

Se emplearon dos metodologías distintas para la preparación de extractos acuosos a partir de hojas de *Quercus robur*.

Método 1: Infusión en Agua Caliente

Se utilizaron hojas de *Q. robur* recolectadas en enero de 2021 (San Carlos, Región de Bío Bío, Chile). Para la obtención del extracto, se utilizaron 12 g de hojas verdes de *Q. robur*, previamente limpiadas en seco, las que se sumergieron en 2,5 L de agua precalentada a una temperatura en el rango de 80-98 °C. El tiempo de contacto entre el material vegetal y el agua caliente fue de 5 a 10 minutos. Transcurrido este periodo, las hojas fueron retiradas mecánicamente, obteniéndose así el extracto acuoso líquido (infusión) para su uso posterior. La relación sólido-solvente empleada en este proceso fue de aproximadamente 4,8 g/L.

Método 2: Maceración en Frío con Agitación y Liofilización

Se utilizaron hojas de *Q. robur* recolectadas en enero de 2023 (San Carlos, Región de Bío Bío, Chile), seleccionadas por estar completamente desarrolladas y en buen estado fitosanitario. Para la extracción, 27 g de hojas fueron combinados con 600 mL de agua destilada (relación sólido-solvente de 45 g/L). La mezcla fue inicialmente sometida a un proceso de licuado para aumentar la superficie de contacto. Posteriormente, se mantuvo en maceración a temperatura ambiente durante 24 horas bajo agitación continua. Para separar la fase líquida, la mezcla se centrifugó a 1.107 x g durante 15 minutos. El sobrenadante clarificado fue recolectado y sometido a un proceso de liofilización para obtener el extracto acuoso final en forma de polvo seco.

Metodología de Extracción Acuosa de Cladodios de *Opuntia ficus-indica*

Material Vegetal y Preparación

Se utilizaron cladodios (paletas) de *Opuntia ficus-indica*. Se cosecharon cladodios de plantas con más de dos años de desarrollo, asegurando que presentaran un color verde homogéneo, ausencia de manchas o rupturas en la cutícula y un espesor mínimo de 2 cm.

Para la preparación del extracto, se utilizaron cladodios de aproximadamente 600 g. La superficie del cladodio se limpió con alcohol etílico aplicado mediante un paño estéril. Posteriormente, se procedió a retirar manualmente la cutícula externa. Para exponer el parénquima rico en mucílago, el cladodio se cortó longitudinalmente y luego se troceó en cubos de dimensiones relativamente uniformes (aproximadamente 2 a 6 cm²). Los cubos de parénquima preparados se colocaron dentro de una malla estéril para facilitar su manejo durante la extracción.

Método 1: Proceso de Extracción Acuosa por Maceración en Caliente con Agitación

El método de extracción empleado fue una maceración en caliente con agitación constante. La malla estéril conteniendo los 600 g de cubos de cladodio se sumergió completamente en 3,5 litros de agua previamente hervida. La extracción se llevó a cabo manteniendo la temperatura del agua entre 80 °C y 95 °C durante un período de 10 a 20 minutos. Durante todo el proceso, se aplicó agitación mecánica constante a una velocidad de 60 rpm para favorecer la difusión de los componentes solubles, principalmente mucílagos, hacia la fase acuosa. La relación sólido-solvente utilizada fue de aproximadamente 171 g/L. Una vez finalizado el tiempo de extracción, el extracto acuoso líquido resultante fue separado del material vegetal sólido contenido en la malla.

Método 2: Proceso de Extracción por Licuado, Maceración en Frío y Liofilización

600 g de cubos de parénquima de cladodio preparado se combinó con un volumen de 200 mL de agua destilada, manteniendo una relación sólido-solvente de aproximadamente 3000 g/L. La mezcla inicial fue sometida a un proceso de licuado (blending) para homogeneizar y aumentar la superficie de contacto del material vegetal con el solvente.

Posteriormente, la suspensión resultante se mantuvo en maceración a temperatura ambiente (aprox. 20-25 °C) durante un periodo de 24 horas, bajo agitación mecánica continua. Concluida la maceración, la separación de la fase líquida enriquecida en compuestos solubles se realizó mediante centrifugación a 1.107 x g durante 15 minutos. El sobrenadante clarificado fue cuidadosamente recolectado.

Finalmente, para obtener el extracto acuoso en forma sólida y estable para su almacenamiento y posterior análisis o uso, el sobrenadante recolectado fue sometido a un proceso de liofilización hasta sequedad.

Control Positivo: Reoxcare®

Como control de varios de los ensayos realizados, se utilizó Reoxcare® Gel (Histocell, 2024). Reoxcare® es un producto comercial formulado como un hidrogel con ingredientes antioxidantes, cuyo componente principal es el extracto de cúrcuma (*Curcuma longa*), el cual tiene efecto demostrado en migración y proliferación celular, y está indicado para el tratamiento de lesiones cutáneas.

Caracterización Organoléptica y Físico-Química

Las propiedades organolépticas (aspecto, color, olor) se evaluaron mediante inspección visual y olfativa directa de los extractos. Se determinó el pH de los extractos líquidos utilizando un pH-metro a 20°C. La densidad o peso

específico se midió a 15°C y 20°C, mediante picnometría. El contenido de residuo sólido se determinó gravimétricamente secando un volumen de 20 g de extracto en estufa a 80°C hasta peso constante.

Análisis Fitoquímico

Tamizaje Fitoquímico Cualitativo

Se realizaron reacciones colorimétricas estándar para la detección de metabolitos secundarios, incluyendo flavonoides, taninos, saponinas y alcaloides en los extractos de *Q. robur*. La presencia de mucílagos en los extractos de *O. ficus-indica* se determinó mediante precipitación con etanol.

Análisis Cuantitativo

El contenido de fenoles totales se cuantificó mediante el método de Folin-Ciocalteu, utilizando ácido gálico como estándar y midiendo la absorbancia a 760 nm, expresando los resultados como mg equivalentes de ácido gálico por gramo de peso seco (mg GAE/g DW), siguiendo el procedimiento descrito por Maaloul et al., 2025. Los azúcares totales se determinaron por el método del fenol-sulfúrico (DuBois et al., 1956), empleando glucosa como estándar y midiendo la absorbancia a 490 nm. El contenido de ácido urónico se cuantificó utilizando el método basado en carbazol (Filisetti-Cozzi & Carpita, 1991), con ácido galacturónico como estándar y lectura de absorbancia a 525 nm. La cuantificación de mucílagos totales en *O. ficus-indica* se realizó por el método de Forni et al., 1994, expresándose en g%. El nitrógeno orgánico total se determinó por el método Kjeldahl (Bremner, 1965), el fósforo total según Murphy & Riley, 1962, y la proteína total mediante el método de Bradford, 1976.

Actividad Antioxidante

La capacidad antioxidante se evaluó mediante el ensayo de captación del radical libre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo), adaptado de Brand-Williams et al., 1995. La disminución de la absorbancia del radical DPPH se midió a 517 nm después de 30 minutos de incubación. La actividad se expresó como porcentaje de inhibición o como la concentración de extracto necesaria para inhibir el 50% del radical (IC50). Se utilizó Trolox como estándar de referencia.

Perfil Cromatográfico

Se realizaron análisis cromatográficos para identificar componentes en los extractos. Se utilizó un sistema de Cromatografía Líquida de Ultra Alto Rendimiento (UHPLC) acoplado a un detector de Arreglo de Diodos (DAD) y espectrometría de masas (ESI-MS/MS o HR/Q-TOF/MS). La separación se efectuó en columnas de fase reversa C18 (Kinetex 100×3 mm, 1.7 μm) a temperatura controlada (30°C). La fase móvil consistió en un gradiente de agua y acetonitrilo, ambas acidificadas con ácido fórmico (0.1% v/v). El flujo se mantuvo constante (0,4 mL·min⁻¹). La detección por DAD se realizó en un rango espectral amplio (194-600 nm). La espectrometría de masas se operó en modos de ionización por electrospray (ESI) positivo y negativo, en un rango de masas amplio (m/z 50-1500). La identificación tentativa de compuestos se basó en el tiempo de retención, espectro UV, masa molecular exacta (HRMS) y patrones de fragmentación (MS/MS). Se utilizó calibración interna con formato de sodio para análisis HRMS.

Evaluación de las propiedades cicatrizantes en Queratinocitos (HaCat) tratados con extractos vegetales.

El desarrollo de este objetivo permitirá mediante un screening inicial identificar: Nivel de citotoxicidad de los extractos, con la finalidad de establecer el rango de dosis seguro para su utilización. Una vez identificado

el rango de seguridad, se evaluarán propiedades cicatrizantes. Dado que se evaluará en modelo *in vitro*, se consideran solo algunos indicadores del proceso de cicatrización.

Cultivo celular y tratamientos

Se utilizó la línea de queratinocitos humanos inmortalizados HaCaT (ATCC, Manassas, VA, USA), cultivada en medio RPMI-1640 (BioWhittaker, ref. BE12-167F) suplementado con 10 % de suero fetal bovino (FBS, Biowest, ref. S1810-500), 1 % de penicilina-estreptomomicina 100× (Capricorn Scientific, ref. PS-B) y 0,5 % de anfotericina B (Biowest, ref. L0009-100). Las células se mantuvieron subconfluentes a 37 °C en atmósfera humidificada con 5 % de CO₂ (García-Márquez et al., 2023).

Ensayos de citotoxicidad (ensayos MTT)

El efecto citotóxico sobre la línea HaCaT se midió mediante un ensayo MTT. Las células se incubaron de forma independiente en placas de 96 pocillos con 1×10^4 células por pozo, empleando concentraciones variables de Reoxcare, del extracto de *Q. robur* y *O. ficus-indica* (de 0 a 5 mg mL⁻¹) a 37 °C en atmósfera humidificada con 5 % de CO₂ durante 72 h. Los pocillos de control contenían únicamente medio RPMI sin sustancia de prueba. El ensayo se realizó según el método propuesto por Abdala Díaz *et al.* (R. T. A. Díaz et al., 2011). La citotoxicidad se calculó y se expresó como concentración inhibitoria del 50 % (valores de IC50). Los análisis se llevaron a cabo en tres experimentos independientes.

Ensayo de proliferación y migración celular

El ensayo de migración se efectuó utilizando el kit Culture-Insert 2 well migration assay de IBIDI (Figura 1) de acuerdo con las instrucciones del fabricante (© ibidi GmbH, 2019). Las células HaCaT se sembraron en placas de dos pocillos a una densidad de 3×10^5 células·mL⁻¹, usando 70 µL por pocillo, y se cultivaron en medio estándar hasta alcanzar confluencia (aproximadamente 2 días) en DMEM de alta glucosa suplementado con 10 % de FBS y 1 % de penicilina-estreptomomicina, a 37 °C con 5 % de CO₂. Se analizó la migración de HaCaT en el espacio entre los insertos, se visualizó usando un microscopio invertido (Olympus IX71) dos experimentos independientes, uno de proliferación a las 0, 24 y 48h (N=3; n=3) y otro a las 0, 4, 8 y 12h (N=3; n=3). Con las imágenes obtenidas, se calculó el área de cierre de la brecha empleando el software ImageJ/Fiji (Rasband, W.S., ImageJ, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, <https://imagej.net/ij/>, 1997-2018.) y las herramientas de selección y cálculo de área de Adobe Photoshop. La significancia estadística se determinó mediante la prueba t de Student no apareada, bilateral.

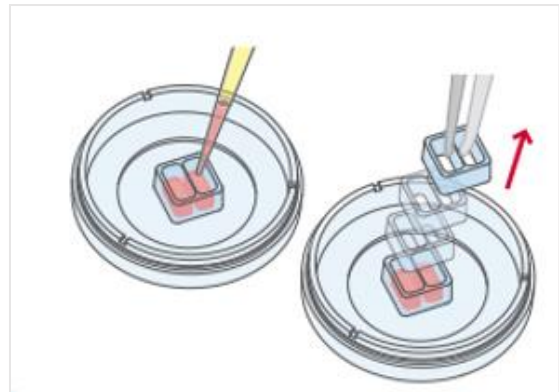


Figura 1: Dispositivo IBIDI Culture-Insert en placa de dos pocillos, que genera una brecha de ancho estandarizado tras la retirada del inserto, permitiendo evaluar de forma reproducible la migración de la monocapa de células HaCaT en el ensayo de cicatrización *in vitro*.

ImageJ/Fiji (Rasband, W.S., ImageJ, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, <https://imagej.net/ij/>, 1997-2018.) y las herramientas de selección y cálculo de área de Adobe Photoshop. La significancia estadística se determinó mediante la prueba t de Student no apareada, bilateral.

Análisis proteómico

Se prepararon placas de 6 pocillos, destinando 3 pocillos al tratamiento con extracto de *Q. robur* bajo condiciones idénticas a las empleadas en los ensayos de migración y proliferación celular, y los otros 3 pocillos se utilizaron como controles sin tratar (N=3, n=3). Las células se cultivaron durante 24 h, luego se lavaron con tampón salino fosfatado (PBS) y se almacenaron a -80 °C. A continuación, se solubilizaron en 500 µL de tampón RIPA

suplementado con nucleasa universal (Merck Millipore / Sigma-Aldrich) y se sometieron a sonicación durante cinco minutos en baño de hielo (Ultrasons, J.P. Selecta S.A., Barcelona, España). Tras una centrifugación a $14.000 \times g$, las proteínas se purificaron mediante un kit de precipitación (Clean-Up Kit, GE Healthcare) y los precipitados obtenidos se disolvieron en agua Milli-Q. La concentración proteica se normalizó a $1 \mu\text{g} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ usando un ensayo colorimétrico de ácido bicinónico (BCA).

Seguidamente, las proteínas se mezclaron con monómeros de acrilamida y se polimerizaron en geles de poli(acrilamida). Se realizaron pasos de reducción con DTT y de alquilación con iodoacetamida. La digestión en gel se llevó a cabo con tripsina, seguida de la extracción de los péptidos resultantes, los cuales se analizaron mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (LC-MS).

Para el análisis proteómico, las muestras se inyectaron en un sistema Easy-nLC 1200 UHPLC acoplado a un espectrómetro de masas híbrido cuadrupolo-Orbitrap Q-Exactive HF-X (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Los péptidos se separaron en una columna analítica y se ionizaron, clasificándose según su relación masa-carga (m/z). Los espectros de masas obtenidos se compararon con la base de datos de proteínas humanas de SwissProt usando el software Proteome Discoverer 2.5 con el motor de búsqueda Sequest HT (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). La tasa de falsas detecciones (FDR) se determinó mediante Percolator, aceptando sólo aquellas proteínas identificadas por al menos dos secuencias peptídicas. La cuantificación de la expresión proteica se realizó utilizando la función Minora de Proteome Discoverer 2.5, evaluando diferencias de expresión entre los grupos de tratamiento y control mediante ANOVA y considerando significativo un valor de $p < 0,05$.

Desarrollo y evaluación de formulaciones piloto que logren preservar la estabilidad fisicoquímica y la aceptabilidad sensorial de las formulaciones.

Basado en las ventajas y desventajas de diferentes tipos de formulaciones farmacéuticas revisadas para el tratamiento de heridas se propone incorporar los extractos en formulaciones de tipo hidrogel y crema. Se han seleccionado 3 tipos de formulaciones, cada una con diferentes concentraciones de un extracto combinado (EC) compuesto por un 30% *Q. robur* y 70% *O. ficus-indica* obtenidos según el método 2 y seleccionado en base a los resultados del OE1. Como control negativo se utilizaron formulaciones sin el Extracto.

Formulaciones y proceso de elaboración:

Hidrogel de carbómero

Para elaborar el hidrogel (Tabla 6), se pesó la cantidad requerida de EC y se disolvió en agua destilada, agitándose vigorosamente durante 2 h a temperatura ambiente; seguidamente, se añadió el carbómero a la solución y se mantuvo la agitación por otras 2 h hasta su completa homogeneización; a continuación, se incorporaron 10 gotas de trietanolamina para neutralizar y desencadenar la polimerización, agitándose 1 minuto hasta obtener un gel transparente; finalmente, se integró el propilenglicol y se mezcló suavemente para ajustar la viscosidad.

Tabla 6: Composición de formulaciones de gel de carbómero con extracto EC (porcentaje en peso, % p/p)

Formulación	Carbómero (polímero)	Extracto (EC)	Propilenglicol	Agua destilada
1	2,5	0,2	15,0	82,3
2	1,5	0,2	15,0	83,3
3	0,5	0,2	15,0	84,3
4	0,5	0,1	15,0	84,4

5	2,5	0,1	15,0	82,4
6	1,5	0,3	15,0	83,2
7	2,5	0,3	15,0	82,2

Novobase II (crema O/W base)

Para la elaboración de la Novobase II (Tabla 7), se fundieron en baño María a 70 °C el ácido cetílico, el ácido esteárico y el propilparabeno (Fase B), mientras que simultáneamente se calentó a la misma temperatura la Fase A, compuesta por el extracto EC disuelto en agua, propilenglicol, metilparabeno y el emulgente (lauril sulfato de sodio o Tween 80); a continuación, se vertió lentamente la Fase A sobre la Fase B bajo agitación continua hasta lograr una mezcla homogénea, y finalmente se mantuvo la agitación hasta que la crema se enfrió a temperatura ambiente.

Tabla 7: Composición porcentual de las formulaciones Novobase II con extracto EC (% p/p)

Formulación	Ácido cetílico	Ácido esteárico	Propilparabeno	Extracto EC	Propilenglicol	Metilparabeno	Lauril sulfato Na	Tween 80	Agua destilada
8	10	5	0,01	0,2	10	0,03	1	0	73,76
9	10	5	0,01	0,2	10	0,03	0	1	73,76
10	10	5	0,01	0,1	10	0,03	1	0	73,86
11	10	5	0,01	0,1	10	0,03	0	1	73,86
12	10	5	0,01	0,3	10	0,03	1	0	73,66
13	10	5	0,01	0,3	10	0,03	0	1	73,66

Quitobase (crema O/W con quitosano)

Para preparar la Quitobase (Tabla 8), primero se elaboró una solución de quitosano disolviendo sorbitol (5 %) y quitosano (2,5 %) en ácido láctico al 1 %, agitando durante 2 h a temperatura ambiente; a continuación, se constituyeron dos fases: la acuosa, con la solución de quitosano, propilenglicol, metilparabeno y extracto EC, y la oleosa, con ácido cetílico, ácido esteárico, propilparabeno y Tween 80; seguidamente, se fundió la fase oleosa a 70 °C, se calentó la fase acuosa a la misma temperatura y se combinaron ambas bajo agitación continua para formar la emulsión, que finalmente se agitó hasta alcanzar temperatura ambiente y estabilizarla.

Tabla 8: Composición porcentual de las formulaciones Quitobase con extracto EC (% p/p)

Formulación	Propilenglicol	Metilparabeno	Lactato de quitosano ²	Agua destilada	Extracto EC	Ácido cetílico	Ácido esteárico	Propilparabeno	Tween 80
14	4,8	0,02	2,5	40	10	8	2	0,02	0,8
15	4,8	0,02	2,5	40	10	8	2	0,02	0,8
16	4,8	0,02	2,5	40	10	8	2	0,02	0,8

² Lactato de quitosano: solución al 2,5 % de quitosano (grado de desacetilación 99 %) con 5 % sorbitol en 1 % ácido láctico.

Evaluaciones organolépticas

Las pruebas sensoriales de las formulaciones se llevaron a cabo mediante un panel entrenado de cinco evaluadores, en condiciones controladas de temperatura (22 ± 2 °C) y humedad (50 ± 5 % HR). Cada muestra (aprox. 1 g) se etiquetó con un código numérico de tres dígitos para garantizar el enmascaramiento de la identidad de la formulación. A continuación, se describen los criterios y procedimiento:

Textura y sensación al tacto: Cada evaluador tomó una muestra del producto entre el dedo índice y pulgar y valoró la sensación al extenderla sobre piel sintética (pH 5,5). Se calificó en una escala de 1 a 5 (1 = muy seca, 3 = equilibrada, 5 = muy humectante).

Espumación: Se aplicó la muestra sobre la palma húmeda y se frotó durante 10 s. El panel anotó si se generó o no espuma (sí/no).

Olor: Con la muestra contenida en tubo abierto, los evaluadores inhalaban a 2 cm de distancia y asignaron la intensidad en una escala de 1 a 5 (1 = sin olor, 3 = moderado, 5 = muy intenso) y especificaron notas aromáticas (e.g., “leve opuntia”, “carbómero”, “sin rancidez”).

Velocidad de absorción: Se aplicó 0,5 g de muestra sobre un cuadrado de piel sintética y se midió el tiempo necesario para percibir ausencia de residuo graso al tacto, registrándolo en segundos.

Color y apariencia visual: Cada producto se vertió en placa de vidrio blanco y se observó a la luz natural (6500 K). Se consignó el color predominante mediante una carta de referencia pantone y se valoró la uniformidad (1 = muy heterogéneo, 3 = uniforme, 5 = muy uniforme).

Los datos de cada parámetro se recopilaron y se calcularon las medianas de grupo. Los resultados se consideraron consistentes cuando la desviación estándar de las puntuaciones individuales fue ≤ 1 punto en la escala.

RESULTADOS

Los resultados de este estudio describen una caracterización y los efectos de los extractos acuosos de *Quercus robur* y *Opuntia ficus-indica* en modelos celulares de cicatrización. En primer lugar, se realizó una caracterización general de los extractos acuosos obtenidos, evaluando su rendimiento, composición fitoquímica y propiedades fisicoquímicas. A continuación, se analizó la viabilidad de las células HaCaT expuestas a distintas concentraciones de ambos extractos. Seguidamente, se evaluó la migración de queratinocitos mediante un ensayo de cierre de brecha a diferentes tiempos. Finalmente, se exploraron los cambios en el perfil proteómico, identificando proteínas clave involucradas en la cicatrización de heridas y la vía de biosíntesis del colesterol. Cada uno de estos resultados se presenta de manera detallada en los apartados siguientes.

Los extractos acuosos de hojas de *Quercus robur* y de cladodios de *Opuntia ficus-indica*, se obtuvieron mediante infusión en agua caliente (Método 1) y maceración en frío con agitación y liofilización (Método 2). Los hallazgos se presentan según rendimiento, composición y actividad antioxidante. Tras evaluar migración y proliferación celular, el estudio proteómico continuó exclusivamente con el extracto de *Q. robur*. En cuanto a *O. ficus-indica*, este extracto se incorporó en las formulaciones piloto del producto, los motivos relacionados se explican la discusión de este estudio.

Caracterización de extractos de *Quercus robur*

La caracterización de los extractos acuosos de *Quercus robur* (Tabla 9) reveló diferencias importantes según el método de obtención. Mediante infusión en agua caliente (12 g de hojas/1 000 mL a 80–98 °C durante 5–10 min) se obtuvo un rendimiento de 0,11 % de sólidos totales; el extracto presentó flavonoides y taninos, sin detección de saponinas o alcaloides, con un pH de 4,98, densidad de 1,0096 g·mL⁻¹ (20 °C) y un residuo sólido del 2,42 %. En contraste, la maceración en frío con agitación durante 24 h y liofilización (27 g de hojas/600 mL) produjo 3,0 g de polvo (11,1 % w/w), cuyo análisis mostró un contenido de nitrógeno total de 2,38 ± 0,20 % fósforo 0,09 ± 0,001 %, proteína total de 14,87 ± 0,9 % y fenoles totales de 3,20 ± 0,15 mg GAE·g⁻¹ DW; adicionalmente, exhibió una inhibición máxima del 22 % del radical libre DPPH.

Tabla 9: Hallazgos de Rendimiento, Composición y Actividad Biológica de Extractos Acuosos de *Quercus robur*: Infusión en Agua Caliente vs. Maceración en Frío con Liofilización

Método	Rendimiento	Composición clave	Propiedades fisicoquímicas	Otros cuantitativos
1. Infusión en agua caliente (12 g hojas / 1 000 mL, 5–10 min, 80–98 °C)	<ul style="list-style-type: none"> Extracto A (agua): 0,11 % sólidos totales 	<ul style="list-style-type: none"> Flavonoides: positivo (+) Taninos: positivo (+) Saponinas, alcaloides: negativos (-) 	<ul style="list-style-type: none"> pH: 4,98 Densidad (20 °C): 1,0096 g·mL⁻¹ Residuo sólido: 2,42 % 	—
2. Maceración en frío + liofilización (27 g hojas / 600 mL agua, 24 h agitación, centrifugado y liofilización)	<ul style="list-style-type: none"> 3,0 g polvo liofilizado a partir de 27 g hojas (11,1 % w/w) 	<ul style="list-style-type: none"> N total: 2.38 ± 0.2 % P: 0.09 ± 0.001 % Proteína total: 14.87 ± 0.9 % Fenoles totales: 3,20 ± 0,15 mg GAE·g⁻¹ DW 	—	<ul style="list-style-type: none"> DPPH (antioxidante): inhibición máx. 22 %

La evaluación fisicoquímica del extracto de hojas de *Q. robur* obtenido por el método 2 (Tabla 10) mediante TGA registró una temperatura de máxima de descomposición a 189 °C con un 64,6 % de pérdida de peso; en el DSC no

se detectó pico endotérmico (Tm); y el espectro FTIR mostró bandas principales en 3264,95, 1514,28 y 1020,03 cm^{-1} .

Tabla 10: Caracterización Físicoquímica del Extracto Acuoso (Método 2) de *Quercus robur* mediante TGA, DSC y FTIR.

Técnica	Parámetro	Resultado
TGA (Análisis termogravimétrico)	Temperatura de mayor descomposición ($^{\circ}\text{C}$) / Pérdida de peso (%)	189 $^{\circ}\text{C}$ / 64,6 %
DSC (Calorimetría diferencial)	Pico endotérmico (Tm)	No detectado
FTIR (Infrarrojo ATR)	Bandas principales (cm^{-1})	3264,95; 1514,28; 1020,03

Composición del extracto acuoso de hojas de *Quercus robur*.

La caracterización fitoquímica del extracto se resume en la Tabla 11, que informa de los valores determinados de nitrógeno orgánico, minerales, proteínas totales y compuestos fenólicos. Los compuestos fenólicos totales (Tabla 9) mostraron consistencia con la actividad antioxidante.

Tabla 11: Perfil del extracto de hojas de *Q. robur*; los datos se expresan en % y $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ DW, incluyendo su desviación estándar.

Compuesto / Elemento	Cantidad
Nitrógeno total (N)	2.38 \pm 0.2 %
Fósforo (P)	0.09 \pm 0.001 %
Proteína total	14.87 \pm 0.9 %
Fenoles totales	3,20 \pm 0.15 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ DW

Comparación de métodos de extracción y caracterización físicoquímica de extractos acuosos de *Opuntia ficus-indica*

La Tabla 12 presenta el rendimiento y la composición de los extractos de *Opuntia ficus-indica* obtenidos por infusión a 80 $^{\circ}\text{C}$ durante 90 min en tres etapas (Método 1) frente a la maceración en frío con agitación y liofilización (Método 2). El Método 1 produjo un rendimiento del 12,5 \pm 0,01 % p/v y 59 g de extracto por 100 g de material seco, con un contenido de azúcares totales del 39,0 \pm 0,09 % y ácido urónico del 29,6 \pm 0,11 %. En comparación, el Método 2 arrojó un rendimiento de 1,7 \pm 0,02 % p/v y 8 g/100 g seco, pero concentró mayores proporciones de azúcares totales (88,8 \pm 0,23 %) y ácido urónico (79,9 \pm 0,22 %).

La Tabla 13 detalla la caracterización físicoquímica del extracto obtenido por Método 2. El análisis TGA indicó una temperatura de máxima descomposición a 183 $^{\circ}\text{C}$ con una pérdida de peso del 58,4 %. En el DSC se identificó un pico endotérmico (Tm) a 189,3 $^{\circ}\text{C}$. El espectro FTIR reveló bandas principales en 3243,57; 1582,14 y 1034,43 cm^{-1} , correspondientes a los grupos funcionales predominantes en el extracto.

Tabla 12: Comparación de rendimiento y composición de extractos de *Opuntia ficus-indica* según método de extracción

Método de extracción y parámetros de evaluación	Método 1 (80 °C; 90 min; 3 etapas)	Método 2 (Maceración en frío y liofilización)
Rendimiento extractable (% p/v)	12,5 ± 0,01	1,7 ± 0,02
Rendimiento (g/100 g opuntia seco)	59	8
% Azúcares totales(g glucosa/100 g seco)	39,0 ± 0,09	88,8 ± 0,23
% Ácido urónico(g glucurónico/100 g seco)	29,6 ± 0,11	79,9 ± 0,22

Tabla 13: Caracterización Físicoquímica del Extracto Acuoso (Método 2) de *Opuntia ficus indica* mediante TGA, DSC y FTIR

Técnica	Parámetro	Resultado
TGA (Análisis termogravimétrico)	Temperatura de mayor descomposición (°C) / Pérdida de peso (%)	183 °C / 58,4 %
DSC (Calorimetría diferencial)	Pico endotérmico (Tm)	189,3 °C
FTIR (Infrarrojo ATR)	Bandas principales (cm ⁻¹)	3243,57; 1582,14; 1034,43

Identificación de metabolitos clave en extractos acuosos (Método 2) mediante UPLC–DAD–ESI–MS/MS

Los análisis UPLC–DAD–ESI–MS/MS de los extractos obtenidos por maceración en frío y liofilización (Método 2) permitieron la detección de varios picos característicos en *Quercus robur* y *Opuntia ficus-indica* (Tabla 14). En *Q. robur*, se registró un pico a 6,10 min (compuesto no identificado; m/z 133,2), un segundo pico a 7,30 min correspondiente al ácido quínico (λ_{\max} 208 nm; m/z 191,0; fragmento 173) y un tercer pico a 35,24 min (compuesto no identificado; m/z 277,3; fragmento 207,2). Por su parte, el extracto de *O. ficus-indica* mostró un primer pico temprano a 5,00 min atribuido a una hexosa (m/z 179; fragmento 161), seguido de un pico a 7,30 min asignado también al ácido quínico (λ_{\max} 210 nm; m/z 191,0; fragmento 173), un pico intermedio a 9,90 min de compuesto no identificado (m/z 257), un pico a 13,90 min identificado como ácido piscídico (λ_{\max} 224 nm; m/z 255; fragmentos 165,1 y 193,3) y dos picos tardíos a 17,60 y 19,50 min correspondientes a monómeros de ácido ecucómico (m/z 239; fragmentos 177,1 y 193,3).

Tabla 14: Compuestos identificados por UPLC–DAD–ESI–MS/MS en extractos acuosos (Método 2) de *Quercus robur* y *Opuntia ficus-indica*.

Extracto (Método 2)	Compuesto (tentativo)	Tiempo de retención (minutos)	λ (max)	Ion molecular [M-H]	Fragmentos
<i>Q. robur</i>	No identificado	6.1	-	133.2	
	Ácido quínico	7.3	208	191.0	173
	No identificado	35.24	-	277.3	207.2
<i>O. ficus-indica</i>	Hexosa	5.0	-	179	161
	No identificado	9.9	-	257	-
	Ácido quínico	7.3	210	191.0	173
	Ácido piscídico	13.9	224	255	165.1 193.3

Monómero de Ácido eucómico	17.6	-	239	177.1
Monómero de Ácido eucómico	19.5	-	239	177.1 193.3

Perfil de huella metabólica de la mezcla *Quercus robur* / *Opuntia ficus-indica* mediante UHPLC–DAD–ESI–MS/MS

La huella UHPLC–DAD–ESI–MS/MS de la mezcla 30 % *Quercus robur* / 70 % *Opuntia ficus-indica* (Figura 2) evidencia múltiples picos entre 0 y 42 min, destacando un pico a 4,18 min atribuido a una hexosa ($\approx 1,3 \times 10^7$ cps), otro a 7,4 min correspondiente al ácido quínico, y un pico dominante a 13,93 min identificado como ácido piscídico ($\approx 1,5 \times 10^7$ cps). Asimismo, se observan señales tardías a 17,40 min y 19,28 min asignadas a monómeros de ácido eucómico, junto con varias señales menores en tiempos intermedios (5,17; 7,40; 12,80; 14,69; 20,16; 25,23; 26,73; 29,67; 30,57; 32,58 min) que sugieren la presencia de otros compuestos aún no identificados. La utilización de una columna C-18 y la inyección directa de la muestra a $1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, tras filtrado a $0,22 \text{ }\mu\text{m}$, permitió una resolución adecuada de estos analitos.

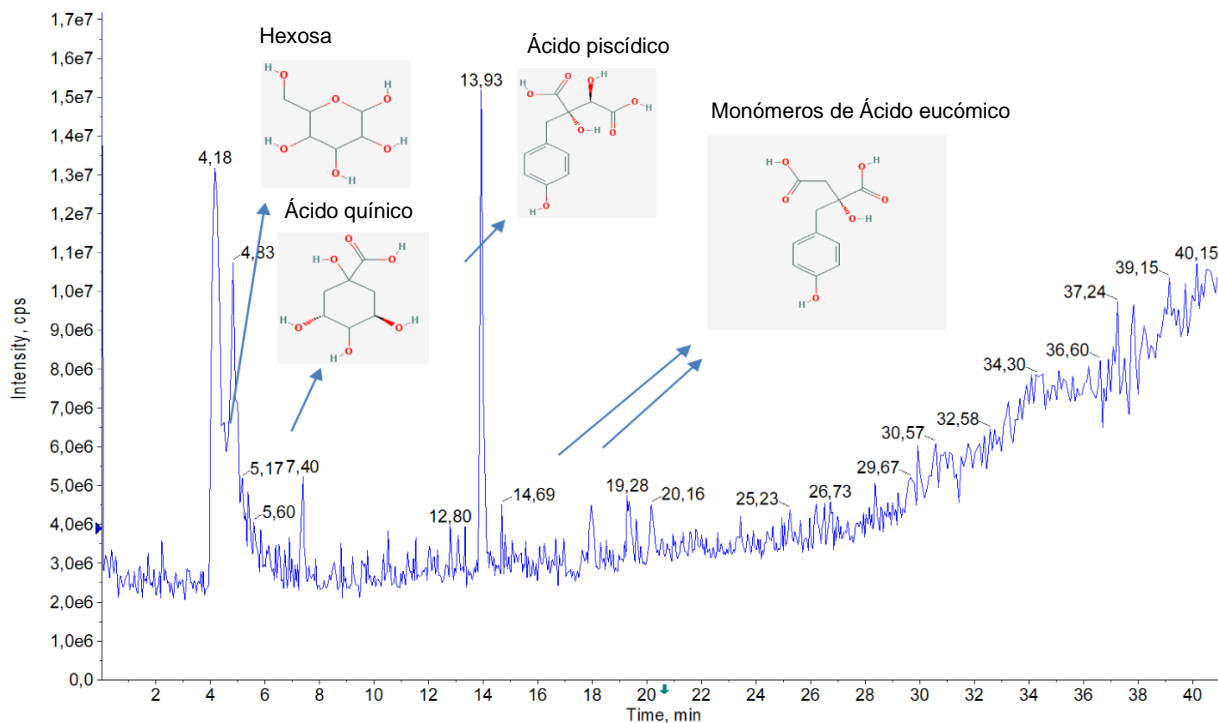


Figura 2: Huella química UHPLC–DAD–ESI–MS/MS de una combinación de extractos 30% *Q. robur* y 70% *O. ficus-indica* obtenidos según el método 2. El cuál fue resuspendido a una concentración de 1 mg/ml , filtrado a través de $0.22 \text{ }\mu\text{m}$ e inyectado directamente. Para la separación se utilizó una columna C-18.

Efecto de los extractos de *Quercus robur* sobre la viabilidad celular

La Figura 3 muestra que, a medida que aumenta la concentración del extracto, disminuye la supervivencia celular, lo que indica una relación lineal negativa. La concentración del extracto que inhibe el 50 % de la absorbancia del MTT convertido en formazán por la actividad respiratoria de las células (IC50), que estima el número de células vivas en los pocillos, fue de $943 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ para el extracto de *Q. robur*. Para el control positivo, el gel Reoxcare, formulado con extracto de cúrcuma y utilizado como referencia en este estudio, el valor IC50 estimado fue de $1967 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$.

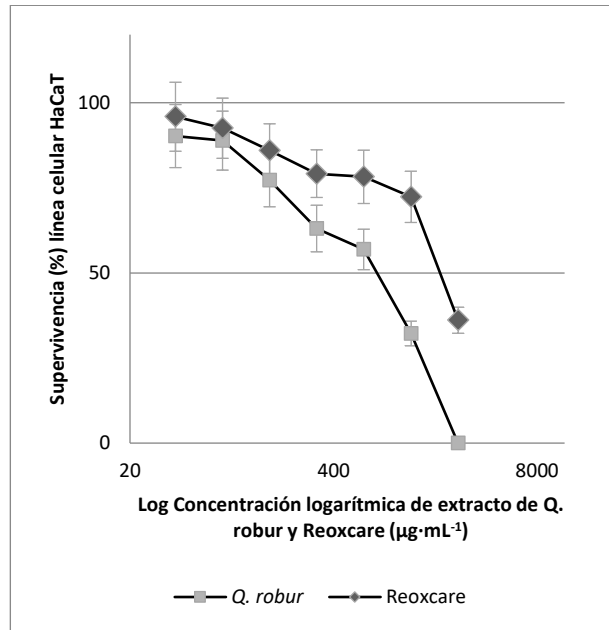


Figura 3: Efecto del extracto de *Q. robur* y del gel Reoxcare sobre la viabilidad de las células HaCaT. El gráfico muestra el porcentaje de viabilidad celular en respuesta a un rango de concentraciones del extracto ($0-2.500 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$). Las barras de error indican la desviación estándar de las mediciones. El gráfico muestra tres experimentos realizados en semanas diferentes, con tres réplicas cada uno ($n=3, N=3$).

Efecto de los extractos de *Opuntia ficus-indica* sobre la viabilidad celular

La Figura 4 muestra que la viabilidad de las células HaCaT disminuye de manera dosis-dependiente al aumentar la concentración del extracto acuoso de *Opuntia ficus-indica*. Sin embargo, los resultados no permiten determinar la IC50, esto considerando que el % de viabilidad celular siempre estuvo sobre el 100%. Se observó que a concentraciones bajas ($625 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) la supervivencia celular alcanza cerca del 126 %, mientras que a $2.500 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ se reduce a aproximadamente al 115 %. y al llegar a $10.000 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ muestra un 102 % de viabilidad. Los errores estándar, derivados de tres experimentos independientes con triplicados, son reducidos.

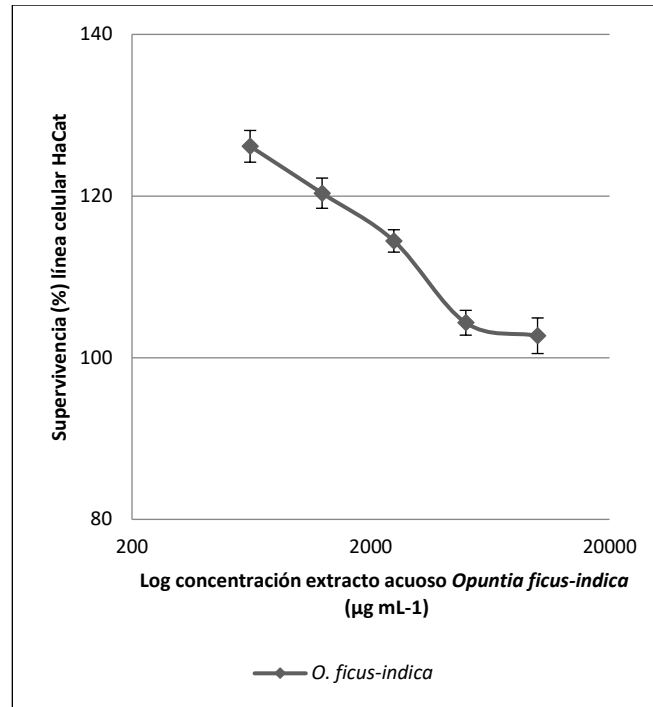


Figura 4: Efecto del extracto de *O. ficus-indica* sobre la viabilidad de las células HaCaT. El gráfico muestra el porcentaje de viabilidad celular en respuesta a un rango de concentraciones del extracto (0-10.000 µg·mL⁻¹). Las barras de error indican la desviación estándar de las mediciones. El gráfico muestra tres experimentos realizados en semanas diferentes, con tres réplicas cada uno (n=3, N=3).

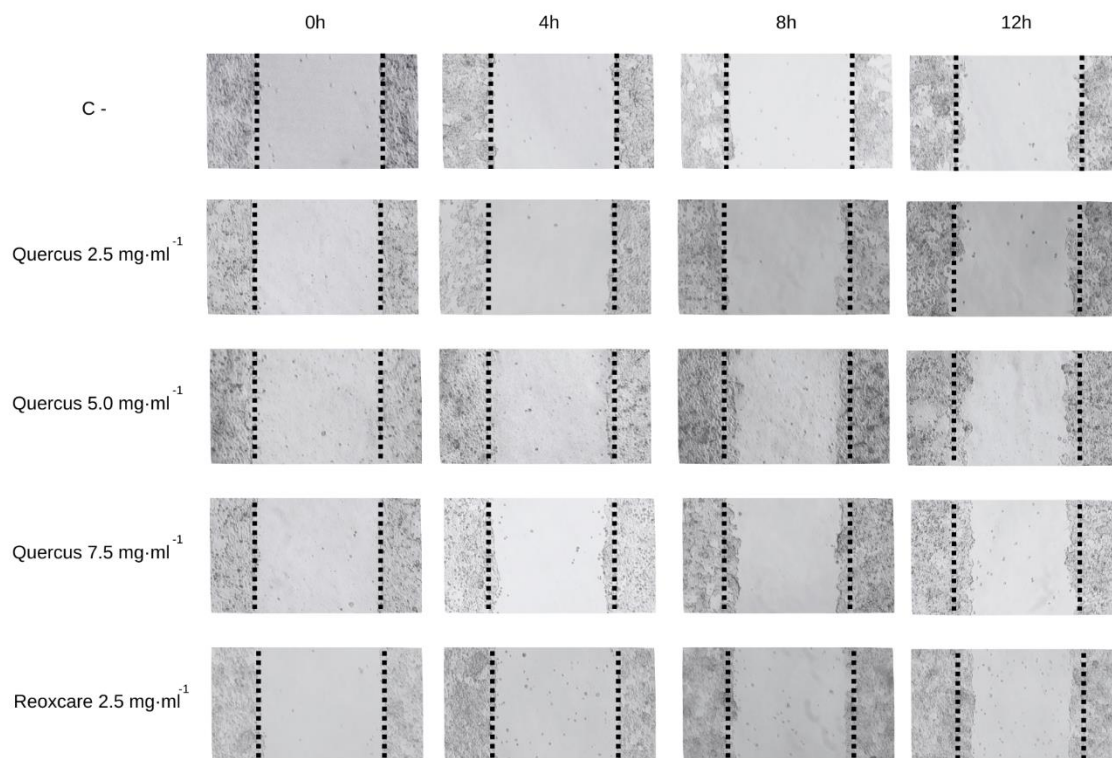
Efectos de los extractos de *Quercus robur* y *Opuntia ficus-indica* en ensayo de herida a 48h

En este ensayo de cicatrización de heridas *in vitro*, se evaluó la migración de células HaCaT tratadas con extractos acuosos de *O. ficus-indica* (2,5 mg·mL⁻¹), *Q. robur* (2,5 mg·mL⁻¹) y un control negativo (sin tratamiento), muestreando en 0, 24 y 48 h (Figura 4). La migración se cuantificó como porcentaje de superficie libre en la brecha generada, con una línea de base uniforme del 100 % al tiempo 0. A las 0h todas las muestras presentaron 100 % de superficie libre, confirmando condiciones iniciales equivalentes. A las 24h Se observó una reducción de la brecha todos los tratamientos: *O. ficus-indica* alcanzó aproximadamente 53 %, mientras que el extracto de *Q. robur* redujo el área a 0 %. El control permaneció alcanzó un 16% de cierre. A las 48h La brecha se cerró completamente en todos los tratamientos. Las diferencias en porcentaje de superficie libre entre cada extracto y el control a 24 h se analizaron mediante t-test de Student no apareado (p < 0,05), confirmando que el tratamiento con extracto acuoso de hojas de *Q. robur* acelera la migración frente al control.

Efectos de los extractos de *Quercus robur* en la migración celular

En este estudio, también evaluamos los efectos del tratamiento con *Q. robur* ($2,5 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, $5,0 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ y $7,5 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) y el producto Reoxcare ($2,5 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) sobre la migración celular mediante un ensayo de cicatrización de heridas realizado en células HaCaT evaluadas a las 0, 4, 8 y 12 horas; los resultados más significativos se presentan en la Figura 6. La migración celular se expresó como porcentaje del área libre de células. Inicialmente, todas las muestras tenían un área libre de células del 100 %, lo que estableció una línea de base uniforme para la comparación.

A las 4 y 8 horas, se observó una reducción moderada del área libre de células en todos los tratamientos. A las 12 horas, la tendencia hacia el cierre progresivo de la brecha se hizo aún más evidente. El grupo de control mostró un área libre de células del 90,49 %, mientras que los tratamientos con *Q. robur* a 5,0 y $7,5 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ alcanzaron valores del 81,21 % y el 82,64 %, respectivamente. En el caso de Reoxcare a $2,5 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, el área libre de células disminuyó al 80,33 %, lo que indica una migración celular más pronunciada. Las diferencias entre los grupos se evaluaron mediante la prueba t de Student para muestras independientes. La reducción del área libre de células entre las 0 y las 12 horas en el control fue significativa, lo que indica un ligero efecto migratorio basal. Además, el tratamiento con *Q. robur* a $5,0 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ dio lugar a diferencias significativas tanto a las 8 h como a las 12 h. De manera similar, *Q. robur* a $7,5 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ mostró diferencias significativas a las 8 h y a las 12 h. Por último, Reoxcare a $2,5 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ demostró una reducción significativa del área libre de células a las 12 h. En general, estos resultados sugieren que el cierre de la brecha se produce de forma progresiva en todos los grupos, pero se acelera en las células tratadas con concentraciones más altas de *Q. robur* y Reoxcare. Los tratamientos inducidos por la migración celular son estadísticamente significativos en comparación con el control negativo, lo que sugiere que ambos compuestos pueden mejorar el proceso de cicatrización de las heridas.



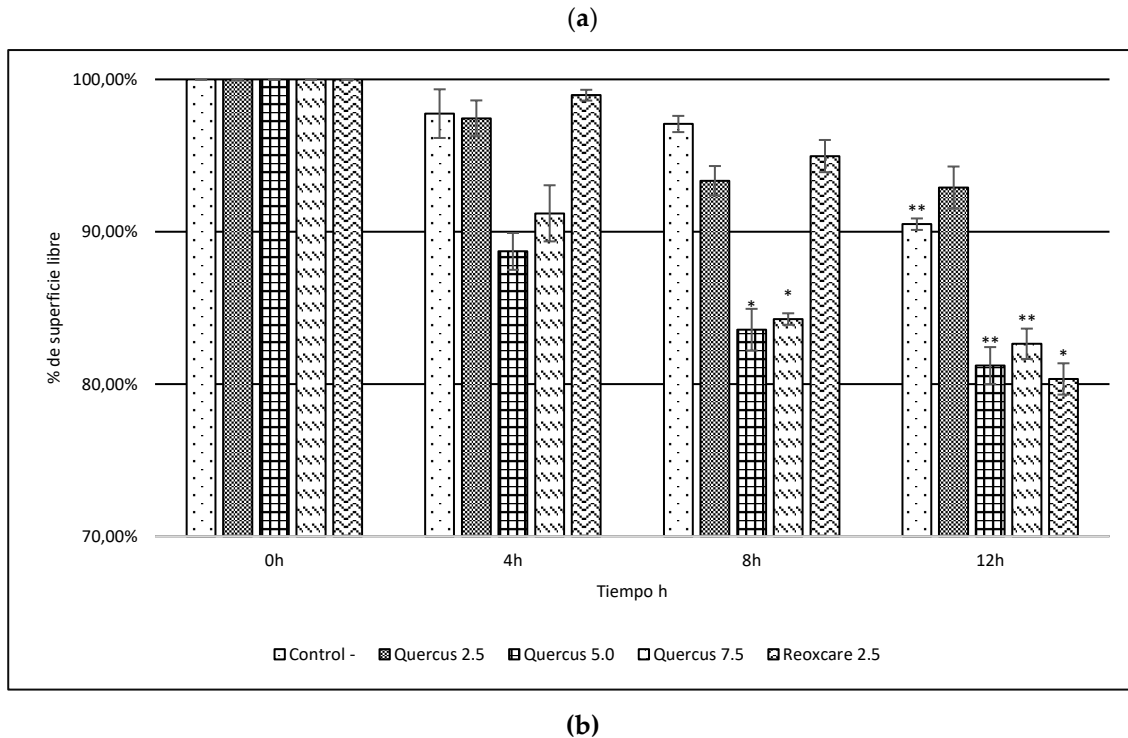


Figura 6: Se evaluaron los efectos de *Quercus robur* L. y Reoxcare sobre el potencial migratorio de la línea celular inmortalizada de queratinocitos humanos (HaCaT) mediante el ensayo de cicatrización de heridas. (a) muestra imágenes representativas del control negativo (C-) y de las células tratadas con diversas concentraciones de extracto de *Q. robur* y Reoxcare a las 0 y 12 horas. (b) presenta la cuantificación relativa (en porcentajes) de las áreas libres de células en muestras tratadas con concentraciones crecientes de extracto de *Q. robur* y una concentración fija de Reoxcare durante los mismos intervalos de tiempo. La significación estadística en comparación con el control negativo se determinó mediante una prueba t de Student no pareada de dos colas: * $p < 0,05$; ** $p < 0,005$.

Análisis proteómico

Efectos del extracto acuoso de *Quercus robur* en el perfil proteómico de queratinocitos humanos

El análisis proteómico reveló cambios significativos en la expresión proteica tras el tratamiento con el extracto de *Q. robur*. Se identificaron un total de 117 proteínas expresadas de forma diferente (DEP), que comprendían 21 proteínas reguladas al alza y 96 reguladas a la baja. Estos hallazgos se ilustran en el gráfico de volcanes (Figura 7a), que muestra los cambios en la expresión de las proteínas (Log_2 Ratio) frente a la significación estadística ($-\log_{10}$ p-value). El umbral de significación se fijó en $p < 0,01$. Además, un mapa de calor (Figura 7b) destaca los distintos patrones de expresión entre los grupos tratados y los grupos de control, lo que permite visualizar la agrupación jerárquica de las DEPs.

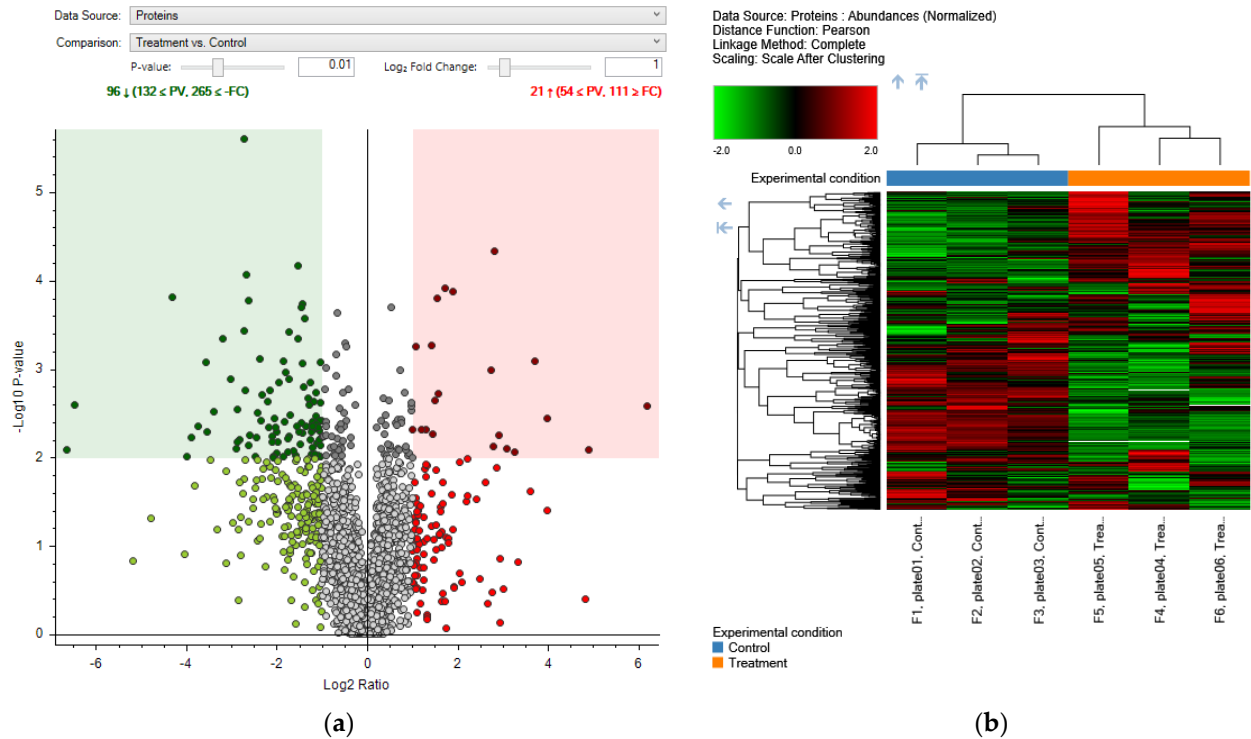


Figura 7: (a) Gráfico de volcanes que muestra las proteínas diferencialmente expresadas (DEP) en células HaCaT tratadas con extracto de *Q. robur* en comparación con el grupo de control no tratado. El eje X representa el logaritmo en base 2 del cambio en el pliegue de expresión (Log_2 Ratio), y el eje Y representa el logaritmo negativo en base 10 del valor p ($-\log_{10}$ p-value). Los puntos rojos indican las DEPs reguladas al alza, mientras que los puntos verdes representan las DEPs reguladas a la baja. Los puntos grises denotan las proteínas cuya expresión no difirió significativamente entre los grupos. El umbral de significación estadística se fijó en un valor $p < 0,01$. En total, 96 proteínas mostraron cambios significativos en su expresión, con 21 reguladas al alza y 75 reguladas a la baja. (b) Mapa de calor que muestra las DEPs en células HaCaT tratadas con extracto de *Q. robur* en comparación con el grupo de control (Ctrl). Los datos de abundancia de proteínas se normalizaron y esalaron después de la agrupación. Se utilizó la correlación de Pearson como función de distancia y se empleó el enlace completo como método de agrupación. Cada fila representa una proteína y cada columna representa una muestra experimental. Las proteínas se agrupan jerárquicamente en función de sus patrones de expresión. Los colores indican los niveles de expresión relativa: verde para expresión baja, negro para expresión media y rojo para expresión alta. Las muestras de control se etiquetan como «Cont.» y las muestras tratadas como «Trea.». Los dendrogramas de la parte superior e izquierda ilustran las relaciones similares entre las muestras y las proteínas, respectivamente.

Análisis de redes de interacción proteína-proteína (PPI)

El análisis STRING dio como resultado una red PPI compuesta por 50 nodos y 71 aristas, con una conectividad que superaba significativamente la expectativa aleatoria ($p < 1 \times 10^{-16}$). Este análisis identificó proteínas clave implicadas en procesos biológicos, como la migración celular, la coagulación sanguínea y la biosíntesis del colesterol. La figura 5 ofrece una representación visual de la red, en la que los nodos con más conexiones indican proteínas centrales en las vías metabólicas y de señalización.

Un hallazgo notable es la sobreexpresión de proteínas implicadas en la biosíntesis del colesterol. La Figura 8 muestra un grupo significativo de proteínas asociadas a esta vía, destacando enzimas clave como CYP51A1, DHCR7, FDFT1, LBR, LSS y SQLE. Esta sobreexpresión sugiere que el extracto de *Q. robur* puede modular la síntesis del colesterol, un proceso crítico para la regeneración celular y la cicatrización de heridas (Luo et al., 2020; Luu et al., 2016; Porter et al., 1996).

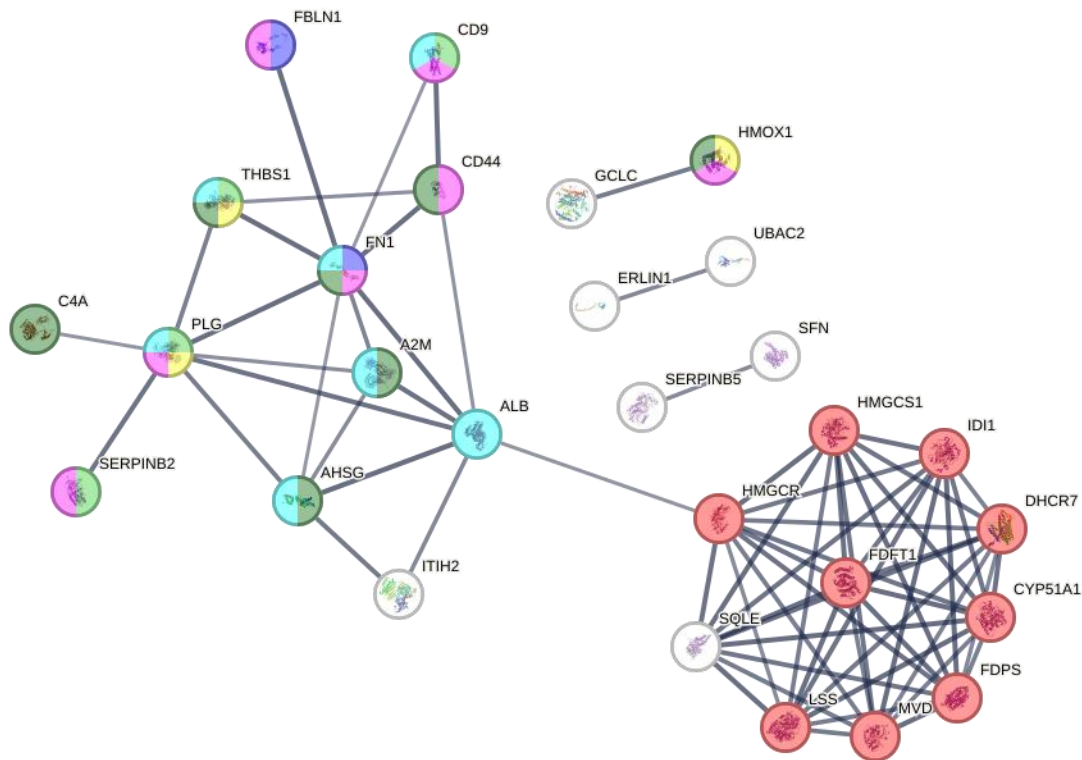


Figura 8: Visualización de la red de interacción proteína-proteína (PPI) utilizando STRING. La red consta de 50 nodos y 71 aristas, con un número esperado de aristas de 8 y un valor p de enriquecimiento de PPI $< 1,0 \times 10^{-16}$, lo que indica una conectividad significativamente mayor de lo esperado. El grado medio de los nodos es de 2,84 y el coeficiente de agrupamiento local medio es de 0,495. La red revela dos grupos principales: uno denso (en rojo) asociado a la desgranulación plaquetaria y otro menos denso relacionado con procesos como la coagulación sanguínea y la respuesta inflamatoria. Estos grupos reflejan las funciones y vías biológicas enriquecidas identificadas.

Análisis de enriquecimiento funcional

El análisis de enriquecimiento funcional identificó términos significativos de Gene Ontology (GO) relacionados con procesos como la regulación de la migración celular, la adhesión y la cicatrización de heridas (Tabla 15). Además, el análisis de enriquecimiento de la vía Reactome destacó vías metabólicas clave, como la desgranulación plaquetaria, con un valor p de $1,44 \times 10^{-5}$ (Tabla 16). Estos hallazgos enfatizan el papel del extracto de *Q. robur* en la modulación de procesos biológicos esenciales implicados en la regeneración de la piel.

Tabla 15: Proceso biológico (Gene Ontology). Esta tabla enumera los términos de procesos biológicos de Gene Ontology (GO) que se enriquecen en la red de interacción proteína-proteína (PPI). Los términos GO proporcionan descripciones funcionales de los procesos biológicos en los que participan las proteínas de la red. La intensidad representa la relación entre la proporción de proteínas del término GO en la red y la proporción esperada en todo el genoma.

GO-term	Descripción	Recuento en la red	Intensidad	Tasa de falsos descubrimientos (FDR)
GO:0010647	Regulación de la migración celular dependiente de sustrato, adhesión celular	2	2.42	0.021
GO:0006695	Proceso biosintético del colesterol	2	1.97	7.95e-4
GO:0007596	Coagulación sanguínea	9	1.52	3.12e-4
GO:0002040	Regulación positiva de la migración de células endoteliales	7	0.77	0.0099
GO:0022617	Cicatrización de heridas	8	0.77	0.028
GO:0006954	Respuesta inflamatoria	8	0.77	0.0077

Tabla 16: «Vías de Reactome». Esta tabla enumera las vías de Reactome enriquecidas en la red de interacción proteína-proteína (PPI). Las vías de Reactome proporcionan descripciones detalladas de las rutas metabólicas y de señalización en las que participan las proteínas de la red.

Ruta	Descripción	Recuento en la red	Intensidad	Tasa de falsos descubrimientos (FDR)
R-HSA-114608	Degranulación plaquetaria	7	1.34	1.44e-05

Vía de biosíntesis de esteroides

El análisis de la vía de biosíntesis de los esteroides en el Homo sapiens se presenta en la Figura 9, en la que se destacan las enzimas clave que intervienen en este proceso. La vía comienza con la biosíntesis de la cadena principal del terpenoide, donde el pirofosfato de farnesilo (Farnesyl-PP) se convierte en escualeno mediante la enzima farnesil difosfato farnesiltransferasa 1 (FDFT1, hsa:2222). Posteriormente, el escualeno es epoxidado por la escualeno epoxidasa (SQLE, hsa:6713) para formar 2,3-oxidosqualene, que se convierte en lanosterol a través de la lanosterol sintasa (LSS, hsa:4047).

La figura también destaca la participación de enzimas clave como CYP51A1 (hsa:1595), implicada en la desmetilación del lanosterol, y DHCR7 (hsa:1717), que reduce el 7-dehidrocolesterol a colesterol. Además, el receptor de laminina B (LBR, hsa:3930) desempeña un papel en la conversión del zimesterol en colest-7,24-dien-3 β -ol. Estos pasos enzimáticos son cruciales para la biosíntesis del colesterol y otros esteroides, que son esenciales para la estructura y función de las membranas celulares y la producción de hormonas esteroides. Sin embargo, en este trabajo no se evaluó directamente la estabilidad o fluidez de la membrana tras el tratamiento con el extracto.

(48 h a 40 ± 2 °C, 5 ± 2 °C y nuevamente 40 ± 2 °C). Asimismo, permanecieron estables sin separación de fases al almacenar a 40 °C durante 1 mes. Los valores de pH se mantuvieron en el rango 5,35–6,60, adecuados para aplicación cutánea (Tabla 17)

Tabla 17: Resultados de estabilidad y pH del Hidrogel de carbómero

Formulación	Centrifugación	Estrés térmico (40 → 5 → 40 °C)	Estabilidad 1 mes @ 40 °C	pH
1	1 fase	1 fase	1 fase	5,35
2	1 fase	1 fase	1 fase	6,60
3	1 fase	1 fase	1 fase	6,45
4	1 fase	1 fase	1 fase	6,20
5	1 fase	1 fase	1 fase	5,90
6	1 fase	1 fase	1 fase	6,15
7	1 fase	1 fase	1 fase	6,00

Novobase II (crema O/W base)

Las seis formulaciones de Novobase II (variantes 8–13) mantuvieron homogeneidad tras centrifugación y no presentaron separación de fases ni cambio de color u olor tras el estrés térmico ni tras 1 mes de almacenamiento a 40 °C. El pH final de las cremas estuvo comprendido entre 5,2 y 5,8, dentro del rango fisiológico tolerable (Tabla 18).

Tabla 18: Resultados de estabilidad y pH de Novobase II (crema O/W base)

Formulación	Centrifugación	Estrés térmico	Estabilidad 1 mes @ 40 °C	pH
8	1 fase	1 fase	1 fase	5,50
9	1 fase	1 fase	1 fase	5,45
10	1 fase	1 fase	1 fase	5,60
11	1 fase	1 fase	1 fase	5,20
12	1 fase	1 fase	1 fase	5,75
13	1 fase	1 fase	1 fase	5,30

Quitobase (crema O/W con quitosano)

Las formulaciones 14–16 de Quitobase conservaron una fase única tras centrifugación, resistieron los ensayos de estrés térmico sin presentar sinéresis ni alteraciones organolépticas y permanecieron estables durante 30 días a 40 °C. El pH de la emulsión resultante osciló entre 4,8 y 5,1 (Tabla 19).

Tabla 19: Resultados de estabilidad y pH de Quitobase (crema O/W con quitosano)

Formulación	Centrifugación	Estrés térmico	Estabilidad 1 mes @ 40 °C	pH
14	1 fase	1 fase	1 fase	4,80

15	1 fase	1 fase	1 fase	5,00
16	1 fase	1 fase	1 fase	5,10

Todos los sistemas formulados mostraron excelente estabilidad física y química, con pH compatibles con la aplicación cutánea y sin indicios de separación de fases o cambios organolépticos tras las condiciones de prueba.

Evaluaciones organolépticas de las formulaciones galénicas con extractos de *Opuntia ficus-indica* y *Quercus robur*

Las propiedades sensoriales de las formulaciones (Tabla 20) se evaluaron para asegurar la aceptabilidad y percepción del usuario final. En el caso del Hidrogel de carbómero (experimentos 1–7), todas las variantes presentaron una textura muy humectante, no generaron espuma durante la aplicación, exhibieron un leve olor característico a opuntia y carbómero, mostraron una excelente velocidad de absorción en la piel y se percibieron de un color café transparente uniforme. Por su parte, las cremas Novobase II (experimentos 8–13) y Quitobase (experimentos 14–16) mantuvieron una consistencia homogénea y suave al tacto, no evidenciaron separación de fases al extenderlas, no desarrollaron olores rancios tras los ensayos de estrés térmico, y retuvieron un perfil olfativo limpio y característico del extracto combinado (EC), sin sensaciones grasosas residuales.

*Tabla 20: Resultados de las evaluaciones organolépticas de gel y cremas formuladas con extractos de *Opuntia ficus-indica* y *Quercus robur*.*

Formulación	Textura	Espuma	Olor	Absorción	Color
Hidrogel de carbómero (1–7)	Muy humectante	No	Leve a opuntia y carbómero	Excelente	Café transparente
Novobase II (8–13)	Suave, homogénea	No	Característico (sin rancidez)	Buena—rápida	Blanco perlado
Quitobase (14–16)	Suave, sedosa	No	Característico (sin rancidez)	Buena—moderada	Blanco cremoso

DISCUSIÓN

La búsqueda de nuevos agentes terapéuticos para tratar las heridas crónicas es un área de investigación crucial, impulsada por la creciente prevalencia de estas afecciones y las limitaciones de los tratamientos actuales. En este contexto, el uso de extractos de plantas con propiedades bioactivas se ha convertido en un foco de interés, gracias a su potencial para promover la cicatrización, reducir la inflamación y prevenir infecciones. (Anlas et al., 2019; Chokpaisarn et al., 2017; Zangeneh et al., 2019).

Métodos de extracción y caracterización fitoquímica

La comparación de los métodos de extracción utilizados para *Quercus robur* y *Opuntia ficus-indica* revela que la maceración en frío con agitación y liofilización (Método 2) es la estrategia más eficiente para concentrar los metabolitos bioactivos, aunque a expensas de un menor rendimiento global. En *Q. robur*, este método obtuvo un rendimiento de 11,1 % w/w, con una composición rica en nitrógeno ($2,38 \pm 0,20$ %), proteína total ($14,87 \pm 0,9$ %), dentro de los rangos reportados tanto para esta especie como para otros miembros del género (Rotowa et al., 2025; Visakorpi et al., 2020), y compuestos fenólicos ($3,20 \pm 0,15$ mg GAE·g⁻¹ DW), lo cual se tradujo en una inhibición máxima del 22 % en el ensayo DPPH, la cual es moderada en comparación con estudios anteriores. Los contenidos fenólicos descritos para otras especies de *Quercus* oscilaron entre 11,20 y 35,47 mg GAE·g⁻¹ DW (Jong et al., 2012; Popović et al., 2013; Tuyen et al., 2016), lo que demuestra una actividad antioxidante significativamente mayor, que alcanzó hasta el 81,14 % (*Q. sartorii*) y el 82,60 % (*Q. rysophylla*) en extractos metanólicos (Coyotl-Martinez et al., 2025). En contraste, el extracto de *O. ficus-indica* concentró, bajo el mismo método, sólo un $1,7 \pm 0,02$ % p/v de rendimiento (8 g/100 g seco), pero exhibió un contenido sobresaliente de azúcares totales ($88,8 \pm 0,23$ %) y ácido urónico ($79,9 \pm 0,22$ %). Este perfil sugiere que, mientras el extracto de *Q. robur* aporta principalmente fenoles con capacidad antioxidante, el de *O. ficus-indica* provee polisacáridos y mucílagos que favorecen la retención de agua y la formación de un biofilm protector sobre la herida.

El análisis cromatográfico UHPLC–DAD–ESI–MS/MS confirma la presencia de metabolitos compartidos y únicos en ambos extractos: ambos muestran un pico de ácido quínico a 7,30 min, pero *Q. robur* presenta picos exclusivos (no identificados a 6,10 min y 35,24 min), mientras que *O. ficus-indica* se caracteriza por hexosa (5,00 min), ácido piscídico (13,90 min) y monómeros de ácido eucómico (17,60 y 19,50 min). La co-presencia de ácido quínico en ambos sugiere un aporte común a la capacidad de secuestro de radicales libres, mientras que los polisacáridos de *O. ficus-indica* pueden actuar como agentes humectantes y antiinflamatorios, reduciendo la migración leucocitaria en fases agudas de inflamación. En conjunto, estos resultados apoyan la elección de la maceración en frío para maximizar la recuperación de compuestos termo-lábiles y respaldan la hipótesis de que la combinación de ambos extractos podría generar una sinergia terapéutica, al unir la acción antioxidante y astringente de *Q. robur* con las propiedades hidratantes y antiinflamatorias de *O. ficus-indica*.

Citotoxicidad y rango de seguridad *in vitro*

El análisis de citotoxicidad del extracto acuoso de *Q. robur*, realizado mediante el ensayo MTT, reveló un IC₅₀ de 943 µg·mL⁻¹, similares a los resultados obtenidos en queratinocitos y fibroblastos: Hong et al. observaron una viabilidad de aproximadamente el 90 % en células HaCaT expuestas a 100 µg·mL⁻¹ de extracto acuoso de *Q. acuta*, y Wunnoo et al. informaron de una viabilidad de aproximadamente el 70 % en fibroblastos tratados con 200 µg·mL⁻¹ de extracto etanólico de *Q. infectoria* (Hong et al., 2022; Wunnoo et al., 2024). En conjunto, estos datos indican un bajo nivel de citotoxicidad del extracto de *Q. robur* en las condiciones ensayadas.

Estudios anteriores han demostrado que los extractos de varias especies de *Quercus*, incluida *Q. coccifera*, pueden promover la proliferación de fibroblastos 3T3 y afectar a la producción de TNF-α en macrófagos. (Anlas et al.,

2019). Si bien la proliferación celular *in vitro* es un indicador útil de viabilidad y potencial mitogénico, por sí sola no prueba que las células puedan integrarse, diferenciarse y organizarse de manera funcional en un tejido dañado. Para evaluar el potencial regenerativo, es imprescindible complementar los ensayos de proliferación con estudios de migración, diferenciación, remodelación de matriz, interacción con el microambiente y modelos *in vivo* o de organoides más complejos (Ghasemi et al., 2021; Iismaa et al., 2018).

En comparación con el producto comercial Reoxcare Gel, el extracto de *Q. robur* mostró un IC50 más bajo (1967 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ para Reoxcare), lo que indica una mayor citotoxicidad del extracto de *Q. robur* en las condiciones evaluadas. Sin embargo, la formulación del gel incluye componentes adicionales que pueden influir en las respuestas celulares, lo que debe tenerse en cuenta al interpretar estos valores.

Por su parte, el extracto de *O. ficus-indica* no presentó efectos citotóxicos dentro del rango analizado (625–10.000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$). De hecho, la viabilidad de HaCaT se mantuvo siempre por encima del 100 %, alcanzando un pico máximo del 126 % a 625 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ y un 102 % a 10.000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, lo que sugiere incluso un leve efecto proliferativo asociado a sus polisacáridos y mucílagos. Este perfil destaca la excelente tolerancia celular a los polisacáridos extraídos de *Opuntia ficus-indica*, múltiples estudios *in vitro* e *in vivo* coinciden en la ausencia de efectos citotóxicos o genotóxicos en diversos tipos celulares y modelos animales. Ensayos en fibroblastos NIH-3T3, macrófagos RAW 264.7, células HEK-293, además de evaluaciones en ratón mediante la prueba de micronúcleos, confirman viabilidad celular mantenida y propiedades citocompatibles a concentraciones de hasta 10 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ (Ktari et al., 2024; Lefsih et al., 2018; Nam et al., 2023).

Potencial cicatrizante basado en ensayos de migración celular

Los ensayos de cierre de brecha realizados a 24 y 48 h revelaron una clara aceleración de la migración celular en los tratamientos con extractos frente al control negativo. A las 24 h, el extracto de *Quercus robur* consiguió el cierre completo de la brecha (0 % de superficie libre), mientras que *Opuntia ficus-indica* redujo el área libre a aproximadamente un 53 %, y el control solo logró un 16 % de cierre, manteniéndose con gran parte de la superficie sin cubrir. Para las 48 h, todos los tratamientos alcanzaron cierre total, pero la velocidad de migración observada indica que *Q. robur* promueve la migración de queratinocitos con mayor rapidez que *O. ficus-indica*, reflejando su mayor concentración de fenoles y taninos con este efecto. Dado que *O. ficus-indica* presentó un cierre de brecha significativamente más lento que *Q. robur* y para centrar los recursos experimentales en el tratamiento de mayor eficacia, no se realizaron estudios funcionales adicionales con el extracto de *O. ficus-indica* a partir de este punto.

Si bien en el ensayo de viabilidad MTT a 72 h, la concentración de 2,5 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ de *Q. robur* mostró efecto citotóxico, en el ensayo de cicatrización *in vitro* a 48 h, esa misma dosis logró el cierre completo de la brecha (> 98 % de migración). Sobre la base de estos hallazgos —eficacia sostenida a largo plazo y viabilidad celular preservada— se decidió evaluar concentraciones superiores (5,0 y 7,5 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) en el ensayo de 24 h, con el objetivo de anticipar el proceso de migración y e intentar determinar el umbral máximo de efectividad pro-migratoria en fases tempranas, sin que ello implicara un daño citotóxico significativo.

El ensayo dinámico de 0–12 h con *Q. robur* (5,0 y 7,5 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) y el gel comercial Reoxcare® (2,5 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) confirmó que las primeras etapas de cicatrización también se ven beneficiadas por estos tratamientos. El extracto de *Q. robur* promovió la migración celular tras 8 horas de tratamiento, mostrando diferencias significativas con respecto al control negativo y a Reoxcare. Tras 12 horas, el efecto fue similar al de Reoxcare, con un 80 % de la herida sin cerrar. Para evaluar mejor su impacto en la regeneración tisular, se podrían realizar estudios adicionales que prolonguen la duración del experimento o incluyan inhibidores de la división celular, como la mitomicina C, para diferenciar los efectos de la migración de los efectos relacionados con la proliferación (Y. Wang et al., 2012). El

extracto de *Q. robur* contiene compuestos fenólicos, entre ellos ácido gálico, catequina y epicatequina, reconocidos por sus propiedades antioxidantes y antiinflamatorias. En modelos celulares, el ácido gálico favorece la migración celular y la cicatrización de heridas, incluso en condiciones de estrés oxidativo o hiperglucemia. (Yang et al., 2015). Aunque estos mecanismos pueden desempeñar un papel en los efectos observados, se necesitan más estudios para validar esta hipótesis.

La integración de estos hallazgos sugiere que el extracto de *Q. robur*, con su alta concentración de compuestos fenólicos, puede promover un efecto pro-migratorio en los queratinocitos modulando el estrés oxidativo y la inflamación. Este efecto es particularmente relevante en heridas crónicas, donde la migración celular temprana es crucial en la recuperación tisular.

Mecanismos moleculares: análisis proteómico

El análisis proteómico de queratinocitos HaCaT tratados con extracto de *Quercus robur* reveló un total de 117 proteínas diferencialmente expresadas (DEP), de las cuales 21 estaban reguladas al alza y 96 a la baja (umbral $p < 0,01$). El gráfico de volcanes y el mapa de calor (Figura 7) permitieron visibilizar de forma clara estos cambios, mostrando patrones de expresión homogéneos entre réplicas de tratamiento y una separación nítida respecto al control. Estos resultados confirman que el extracto induce modificaciones profundas en el proteoma celular, justificando el posterior análisis de redes y rutas de señalización.

El análisis de interacción proteína-proteína (PPI) mediante STRING generó una red de 50 nodos y 71 aristas, con una conectividad significativamente mayor a la esperada al azar ($p < 1 \times 10^{-16}$). Dentro de esta red, se identificaron dos módulos principales: uno denso vinculado a la desgranulación plaquetaria y otro asociado a la coagulación sanguínea y la respuesta inflamatoria. La implicancia de estos procesos sugiere que, más allá de la migración celular, el extracto modula componentes del sistema inmuno-coagulativo, favoreciendo un entorno molecular propicio para la reparación tisular. Los genes del módulo de desgranulación plaquetaria agrupan proteínas clave para la liberación de gránulos que contienen factores de crecimiento y citoquinas. Por ejemplo, en un análisis de proteoma plaquetario, las proteínas relacionadas con desgranulación se destacaron como un módulo con conexiones densas (H.-L. Chen et al., 2024). Este proceso es esencial en la fase temprana de la cicatrización, pues los gránulos plaquetarios liberan PDGF, TGF- β y otras moléculas que promueven la angiogénesis y reclutan células de reparación (Valizadeh et al., 2021). La coexistencia de desgranulación plaquetaria y vías de coagulación e inflamación en la misma red PPI revela un claro crosstalk inmuno-coagulativo: la desgranulación plaquetaria libera factores mitogénicos y quimiotácticos que promueven la proliferación y el reclutamiento celular; la coagulación genera un andamiaje fibrótico que facilita la migración celular y aporta señales bioquímicas; y la respuesta inflamatoria regulada asegura la limpieza de detritos y la activación controlada de fibroblastos; juntos, estos procesos interrelacionados configuran un microambiente pro-reparación que refuerza los efectos de la migración celular y sugiere un potencial modulador del extracto tanto en las etapas iniciales como en las tardías de la cicatrización (ESMON et al., 2011; Liu et al., 2020; Wilhelm et al., 2023; Xing et al., 2022).

El enriquecimiento funcional confirmó la participación de proteínas implicadas en procesos críticos para la cicatrización: regulación de la migración celular dependiente de sustrato y adhesión (GO:0010647), cicatrización de heridas (GO:0022617) y respuesta inflamatoria (GO:0006954). Asimismo, la vía de Reactome “Degranulación plaquetaria” (R-HSA-114608) fue la más significativa ($p = 1,44 \times 10^{-5}$), reforzando la relevancia de la liberación de gránulos plaquetarios en la fase inicial de reparación. Estos hallazgos sugieren que el extracto no solo promueve la motilidad de queratinocitos, sino que también activa señales de coagulación y moduladores inflamatorios necesarios para la formación de la matriz provisional.

Un descubrimiento notable fue la sobreexpresión de enzimas clave de la biosíntesis de colesterol —FDFT1, SQLE, LSS, CYP51A1, DHCR7 y LBR— integradas en la vía hsa00100 (Biosíntesis de esteroides). Dado que el colesterol es esencial para la fluidez de la membrana y la formación de dominios lipídicos necesarios para la migración y proliferación celular, su inducción sugiere un mecanismo adicional por el cual el extracto optimiza la regeneración cutánea.

En conjunto, estos datos proteómicos ofrecen una visión global de los efectos moleculares del extracto de *Q. robur*, lo que sugiere una coordinación entre rutas de migración, adhesión, coagulación, inflamación y metabolismo lipídico que, en sinergia con la actividad antioxidante y pro-migratoria observada en los ensayos *in vitro*, fundamenta su potencial terapéutico en cicatrización. Estos resultados abren la puerta a estudios dirigidos de validación funcional (por ejemplo, inhibición de SQLE) y a modelos *in vivo* para confirmar la relevancia de las vías identificadas. La literatura científica respalda la existencia de un crosstalk inmuno-coagulativo en el proceso de cicatrización. Haga clic o pulse aquí para escribir texto., donde mecanismos de coagulación e inflamación interactúan con rutas de migración y adhesión celular. Haga clic o pulse aquí para escribir texto. y con el metabolismo lipídico, creando un entorno molecular integrado (Brazil et al., 2019; ESMON et al., 2011; Landén et al., 2016; Padilla et al., 2021; Z. Wang et al., 2024; Wilhelm et al., 2023). Revisiones recientes enfatizan la sincronización espacial-temporal de los procesos de migración y adhesión celular en la matriz provisional (fibrina–fibronectina), la inflamación y la hemostasia, marcando la necesidad de validar estos eventos en modelos animales para comprender su interacción sistémica (Rodrigues et al., 2019). Asimismo, se han desarrollado métodos *in vitro* e *in vivo* para evaluar apósitos y sistemas biomiméticos que combinan propiedades hemostáticas, antiinflamatorias, antioxidantes y promigratorias, insistiendo en la realización de estudios dirigidos *in vivo* que confirmen los mecanismos moleculares subyacentes (N. Ahmad, 2022). Haga clic o pulse aquí para escribir texto.. Por ejemplo, un trabajo con Aloe vera demostró en ensayos scratch *in vitro* su capacidad antioxidante y pro-migratoria, y corroboró en ratones un cierre más rápido de las heridas y una mejor organización del tejido de granulación (Razia et al., 2022). Estos trabajos recogen la interconexión de migración, adhesión, coagulación, inflamación y metabolismo lipídico, destacando la sinergia con la actividad antioxidante y pro-migratoria *in vitro*, y convocan a la siguiente etapa de validación *in vivo* para confirmar la relevancia de las vías moleculares implicadas en la cicatrización.

Rol de la biosíntesis de colesterol en la cicatrización

La síntesis de colesterol es vital para la cicatrización de las heridas cutáneas, especialmente en la formación y el mantenimiento de la barrera epidérmica, que consta de queratinocitos y una matriz lipídica extracelular, incluido el colesterol. Los estudios indican que el colesterol interviene en la proliferación y diferenciación de los queratinocitos, dos factores importantes para la regeneración de la piel. (Berniak et al., 2024). Las enzimas de la vía de síntesis del colesterol, como CYP51A1, LSS y SQLE, contribuyen a la producción de colesterol e isoprenoides, que son fundamentales para la regeneración de los tejidos. Los hallazgos de nuestro estudio sobre la sobreexpresión de enzimas sugieren que el extracto de *Q. robur* puede influir en la síntesis de colesterol, ayudando potencialmente al proceso de curación. (Belter et al., 2011; Lepesheva & Waterman, 2004; McCarty et al., 2023; Yoshioka et al., 2020). El análisis proteómico reveló una reducción de los niveles de Delta (14)-sterol reductasa (LBR) en las muestras tratadas en comparación con los controles. Aunque es posible que la LBR no esté totalmente inhibida, su detección reducida implica una modulación potencial por el extracto de *Q. robur*. Dado que la LBR interviene en la biosíntesis del colesterol, estos resultados pueden indicar un efecto indirecto del extracto sobre las vías relacionadas con el colesterol en la cicatrización de heridas.

Aunque la modulación de la biosíntesis del colesterol es un posible mecanismo de acción relevante identificado en este estudio, el análisis proteómico reveló otras proteínas expresadas de forma diferencial implicadas en procesos biológicos clave como la migración celular, la coagulación sanguínea y la respuesta inflamatoria (Tabla 21). Estos hallazgos sugieren que el extracto de hoja de *Quercus robur* puede ejercer una influencia multifactorial en la cicatrización de heridas, una hipótesis que merece una investigación más profunda.

Mecanismo de acción sugerido

Los compuestos bioactivos presentes en el extracto de *Q. robur* incluyen taninos (como taninos hidrolizables, galotaninos y elagitaninos), flavonoides (kaempferol, quercetina e isorhamnetina), compuestos fenólicos simples (ácido gálico y ácido elágico) y triterpenoides como el lupeol. Los taninos poseen propiedades astringentes que contraen los tejidos y detienen las hemorragias, lo cual es crucial en la fase inicial de la cicatrización (Marciničzyk et al., 2022). Los flavonoides son conocidos por sus efectos antioxidantes y antiinflamatorios, que ayudan a proteger los tejidos dañados y favorecen la cicatrización. Del mismo modo, los compuestos fenólicos simples como los ácidos gálico y elágico exhiben propiedades antioxidantes y antiinflamatorias, lo que podría beneficiar el proceso de cicatrización de las heridas. El lupeol, un triterpenoide aislado de varias especies de *Quercus*, inhibe las enzimas COX-1 y COX-2 implicadas en la inflamación, lo que contribuye a los efectos antiinflamatorios y citotóxicos (Şöhretoğlu & Renda, 2020; Taib et al., 2020). La combinación de estos compuestos podría potenciar la proliferación y migración celular, reducir el estrés oxidativo en el lugar de la herida y modular vías metabólicas esenciales, lo que explicaría la eficacia del extracto para acelerar el proceso de reparación (Beserra et al., 2019; Y. Chen et al., 2019; Cioanca et al., 2025; Iosageanu et al., 2024; Y. J. Park et al., 2024).

Desarrollo y evaluación de formulaciones piloto

Los tres sistemas formulados —hidrogel de carbómero, crema O/W base Novobase II y crema O/W con quitosano (Quitobase)— demostraron una estabilidad físico-química sobresaliente tras centrifugación (2.500 rpm, 30 min), ciclos de estrés térmico (48 h a $40 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C} \rightarrow 5 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C} \rightarrow 40 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$) y almacenamiento a $40 \text{ }^\circ\text{C}$ por un mes sin evidenciar separación de fases ni cambios de apariencia. Este comportamiento avala la robustez de las matrices gel y crema ante variaciones de temperatura y agitación, parámetros críticos para garantizar integridad durante transporte y almacenamiento en climas extremos.

Los valores de pH medidos en todas las variantes quedaron comprendidos entre 4,8 y 6,60, rango óptimo para la aplicación cutánea que minimiza el riesgo de irritación e interfiere positivamente con el mantenimiento del manto ácido protector de la piel (CITA). En particular, el hidrogel mostró pH entre 5,35 y 6,60, mientras que Novobase II y Quitobase se situaron en rangos más ácidos (5,2–5,8 y 4,8–5,1, respectivamente), lo que podría favorecer una sensación de frescor y limpieza sin comprometer la biocompatibilidad.

Desde el punto de vista sensorial, el hidrogel de carbómero fue percibido como “muy humectante”, sin generación de espuma, con un leve olor característico a opuntia y carbómero, absorción excelente y color café transparente uniforme. Estas propiedades lo hacen ideal para fases iniciales de cicatrización donde se requiere mantener un ambiente húmedo sin sensación grasa. Por su parte, Novobase II y Quitobase exhibieron una consistencia suave y homogénea, sin separación de fases al extenderlas, olores limpios libres de rancidez, buena—rápida absorción (Novobase II) y moderada (Quitobase) y colores perlado o cremoso, respectivamente. Estas características sugieren una alta aceptabilidad por parte del usuario en etapas posteriores de reparación, cuando se busca mayor retención del principio activo y protección mecánica de la zona.

La elección de una proporción 30 % de *Quercus robur* y 70 % de *Opuntia ficus-indica* responde a la oportunidad de combinar sus propiedades bioactivas de forma equilibrada: el 30 % de *Q. robur* aporta una concentración óptima de fenoles totales ($3,20 \pm 0,15$ mg GAE·g⁻¹ DW) y actividad antioxidante que facilitan la remodelación celular y la protección frente al estrés oxidativo; mientras que el 70 % de *O. ficus-indica* suministra un elevado contenido de polisacáridos ($88,8 \pm 0,23$ % azúcares totales y $79,9 \pm 0,22$ % ácido urónico) que generan un efecto humectante y filmógeno, manteniendo un ambiente húmedo y protector sobre la herida sin comprometer la manejabilidad de la formulación

En conjunto, los datos de estabilidad y organoléptica confirman que la incorporación del extracto combinado (30 % *Q. robur* / 70 % *O. ficus-indica*) no compromete la integridad de las formulaciones ni su percepción sensorial, estableciendo un buen balance entre eficacia terapéutica potencial y experiencia de uso. Para futuros desarrollos, sería pertinente ampliar el panel de evaluación sensorial a usuarios finales y realizar estudios de textura mecánica (rheología) y liberación controlada de principio activo, además de validación *in vivo* de la eficacia cicatrizante y tolerancia dérmica en modelos animales.

Limitaciones y alcances del estudio

Aunque los resultados obtenidos aportan evidencia sólida sobre el potencial cicatrizante de los extractos acuosos de *Quercus robur* y *Opuntia ficus-indica*, este trabajo presenta diversas limitaciones que condicionan la generalización de los hallazgos y delimitan su alcance:

- **Modelo *in vitro* limitado:** Todos los ensayos funcionales de citotoxicidad, migración y proliferación se efectuaron en la línea inmortalizada HaCaT, lo que impide capturar la complejidad del microambiente cutáneo *in vivo*, incluyendo interacciones con fibroblastos, células endoteliales y sistema inmunitario. Asimismo, la falta de modelos tridimensionales de piel o explantes *ex vivo* limita la evaluación de la penetración dérmica y de posibles efectos de matriz extracelular en el comportamiento celular.
- **Extracción de matriz compleja:** Los protocolos empleados (infusión en caliente y maceración–liofilización en frío) generan mezclas complejas de metabolitos, sin aislamiento ni cuantificación de compuestos individuales. Esto dificulta atribuir efectos biológicos a moléculas específicas y no descarta posibles interferencias o sinergias no caracterizadas entre los cientos de fitoquímicos presentes.
- **Ámbito restringido del análisis proteómico:** El estudio proteómico se centró únicamente en los queratinocitos tratados con *Q. robur*, tras descartar continuar con *O. ficus-indica* debido a su menor efecto migratorio. Esto impide comprender los mecanismos moleculares que subyacen al efecto película-humectante del *O. ficus-indica*, y limita la interpretación de la sinergia postulada entre ambos extractos.
- **Proporción fija de formulación:** La formulación piloto empleó un único ratio 30 %/*Q. robur* : 70 %/*O. ficus-indica*, basado en perfiles fitoquímicos y propiedades sensoriales previas, pero no se evaluaron otras proporciones que, potencialmente, podrían optimizar la eficacia terapéutica o la tolerancia dérmica.
- **Estudios de estabilidad acelerada y organoléptica:** Las pruebas de centrifugación, ciclos térmicos y evaluación sensorial confirmaron la robustez físico-química y la aceptabilidad inicial de las formulaciones, pero no incluyen análisis de liberación controlada de bioactivos, estudios de rheología bajo condiciones reales de uso, ni ensayos de irritación dérmica *in vivo*, necesarios para respaldar su viabilidad clínica.
- **Ausencia de datos toxicológicos a largo plazo:** Mientras que los ensayos MTT y los estudios de viabilidad a 72 h validan un rango básico de seguridad, no se realizaron evaluaciones de genotoxicidad, sensibilización alérgica ni toxicidad sistémica, pasos imprescindibles antes de cualquier aplicación clínica.

Orientaciones futuras

En virtud de los hallazgos obtenidos y las limitaciones identificadas, se plantean las siguientes líneas de investigación para avanzar hacia la traslación clínica de esta formulación: primero, la validación *in vivo* en modelos animales de heridas crónicas incluida en el objetivo general de evaluar el potencial cicatrizante a nivel preclínico e *in vivo* permitirá caracterizar la eficacia, la cinética de cicatrización y el perfil inmunológico en un entorno fisiológico complejo; segundo, el aislamiento y la síntesis de compuestos bioactivos de *Q. robur* y *O. ficus-indica* facilitarán confirmar su contribución individual y optimizar la relación dosis-respuesta; tercero, la expansión del análisis proteómico a tratamientos con *O. ficus-indica* y co-tratamientos ofrecerá un mapeo más completo de las redes moleculares implicadas en la sinergia observada; y, finalmente, el diseño de formulaciones avanzadas—como sistemas de liberación controlada (micropartículas, nanohidrogeles) y estudios de compatibilidad con apósitos comerciales—será clave para escalar la producción y orientar el desarrollo de un producto tópico seguro y eficaz para el tratamiento de heridas complejas.

CONCLUSIONES

En conclusión, el presente trabajo ha demostrado que los extractos acuosos de hojas de *Quercus robur* y cladodios de *Opuntia ficus-indica*, obtenidos mediante maceración en frío con liofilización, constituyen una fuente rica en compuestos bioactivos con actividad antioxidante y un perfil fitoquímico favorable para el proceso de cicatrización. Los extractos de *Q. robur* alcanzaron un rendimiento del 11,1 % (w/w) y presentaron 14,9 % de proteína total y 3,2 mg GAE·g⁻¹ de fenoles, junto con una inhibición del radical DPPH del 22 %. El extracto de *O. ficus-indica* mostró un alto contenido de azúcares (88,8 %) y ácidos urónicos (79,9 %), lo que sugiere un potente efecto humectante .

En cultivos de queratinocitos HaCaT, ambos extractos resultaron no citotóxicos, con una IC₅₀ de 943 µg·mL⁻¹ para *Q. robur*. Más importante aún, *Q. robur* demostró acelerar significativamente la migración celular: el cierre de la brecha alcanzó el 100 % a las 24 h, superando al control sin tratamiento.

En el ensayo de cicatrización *in vitro* a las 12 h, el área libre de células en el control negativo se mantuvo en 90,49 %, mientras que el tratamiento con extracto de *Q. robur* a 5,0 mg·mL⁻¹ redujo dicha área al 81,21 % y a 7,5 mg·mL⁻¹ al 82,64 %, evidenciando una migración celular significativamente mayor que el control ($p < 0,05$). El gel comercial Reoxcare® (2,5 mg·mL⁻¹) alcanzó un 80,33 % de área libre, demostrando el mayor cierre de brecha, aunque las diferencias entre Reoxcare y las concentraciones superiores de *Q. robur* no fueron estadísticamente significativas, lo que indica que el extracto de roble presenta un potencial pro-migratorio comparable en las primeras etapas de cicatrización de heridas.

Mediante análisis proteómico cuantitativo se identificaron 96 proteínas diferencialmente expresadas en células tratadas con *Q. robur*, implicadas en vías de biosíntesis de colesterol, desgranulación plaquetaria y respuesta inflamatoria. Estos hallazgos sugieren que la modulación sinérgica de rutas metabólicas y procesos celulares críticos (migración, proliferación y remodelación de matriz) es la base molecular de la actividad cicatrizante observada.

Finalmente, se desarrollaron formulaciones piloto tipo hidrogel y crema (O/W) que incorporan la mezcla 30 % *Q. robur* / 70 % *O. ficus-indica*. Ambos sistemas conservaron estabilidad físico-química y pH adecuado tras tres meses de estabilidad acelerada, y obtuvieron alta aceptabilidad sensorial en pruebas organolépticas (textura, olor, absorción y uniformidad de color).

En conjunto, estos resultados respaldan la viabilidad de una formulación tópica basada en extractos de *Q. robur* y *O. ficus-indica* como estrategia de bajo costo, segura y eficaz para el tratamiento de heridas. Como pasos futuros, se recomienda validar *in vivo* este producto en modelos animales de cicatrización, profundizar en la caracterización de proteínas clave mediante inhibidores específicos y optimizar la relación extracto-vehículo para su escalado y eventual aplicación clínica.

APÉNDICE CUADRO A1. PROTEÍNAS

Overview of Important Differentially Expressed

Tabla 21: Resumen de las principales proteínas expresadas diferencialmente (DEP) identificadas mediante el análisis proteómico de queratinocitos humanos tratados con extracto de hoja de *Quercus robur* L. La tabla incluye el símbolo del gen, el nombre completo de la proteína, los valores de cambio de pliegue (FC) con una precisión de dos decimales y los valores *p* con una precisión de cuatro decimales. Las funciones moleculares se proporcionan basándose en las anotaciones GO.

Símbolo del gen	Nombre de la proteína	Cambio de plegamiento (FC)	FC Valor P	Función molecular
AHSG	Alfa-2-HS-glicoproteína [OS=Homo sapiens]	72.99	0.0026	actividad reguladora de enzimas
FBLN1	Fibulina-1 [OS=Homo sapiens]	30.18	0.0081	actividad de transducción de señales o unión a receptores; actividad reguladora de enzimas; actividad estructural extracelular; otra función molecular
PLG	Plasminógeno [OS=Homo sapiens]	15.82	0.0037	actividad de transducción de señales o unión a receptores; otra función molecular
ALB	Albúmina [OS=Homo sapiens]	13.17	0.0008	actividad de unión a ácidos nucleicos; otra función molecular
IGFBP2	Proteína 2 de unión al factor de crecimiento similar a la insulina [OS=Homo sapiens]	9.59	0.0087	actividad de transducción de señales o unión a receptores; otra función molecular
IDI1	Isopentenil-difosfato Delta-isomerasa 1 [OS=Homo sapiens]	8.5	0.008	otra función molecular
HMOX1	Hemo oxigenasa 1 [OS=Homo sapiens]	7.62	0.0056	otra función molecular
HMGCS1	Hidroximetilglutaril-CoA sintasa, citoplasmática [OS=Homo sapiens]	7.08	0.0	otra función molecular
MVD	Difosfomevalonato descarboxilasa [OS=Homo sapiens]	6.92	0.0076	otra función molecular
FDFT1	Escualeno sintasa [OS=Homo sapiens]	6.7	0.001	otra función molecular
CPD	Carboxipeptidasa D [OS=Homo sapiens]	3.71	0.0001	otra función molecular
GALE	UDP-glucosa 4-epimerasa [OS=Homo sapiens]	3.3	0.0001	otra función molecular
GNAI1	Proteína de unión a nucleótidos de guanina G(i) subunidad alfa-1 [OS=Homo sapiens]	2.97	0.0019	actividad de transducción de señales o unión a receptores; otra función molecular
DHCR7	7-dehidrocolesterol reductasa [OS=Homo sapiens]	2.92	0.0002	otra función molecular
SERPINB5	Serpina B5 [OS=Homo sapiens]	2.82	0.0023	actividad reguladora de enzimas
POLR2A	Subunidad RPB1 de la ARN polimerasa II dirigida por ADN [OS=Homo sapiens]	2.72	0.0054	actividad de unión a ácidos nucleicos; otra función molecular

Símbolo del gen	Nombre de la proteína	Cambio de plegamiento (FC)	FC Valor P	Función molecular
EED	Proteína Polycomb EED [OS=Homo sapiens]	2.7	0.0005	actividad reguladora enzimática;otra función molecular
ROCK2	Proteína quinasa 2 asociada a Rho [OS=Homo sapiens]	2.48	0.0048	actividad citoesquelética;actividad quinasa;otra función molecular
GRN	Progranulina [OS=Homo sapiens]	2.3	0.0048	actividad de transducción de señales o unión a receptores; otra función molecular
SEC23IP	Proteína que interactúa con SEC23 [OS=Homo sapiens]	2.12	0.0006	otra función molecular
ANXA11	Anexina A11 [OS=Homo sapiens]	2.02	0.0049	otra función molecular
PKP3	Plakophilin-3 [OS=Homo sapiens]	0.5	0.0059	otra función molecular
DDX54	ARN helicasa dependiente de ATP DDX54 [OS=Homo sapiens]	0.49	0.0038	actividad de transducción de señales o unión a receptores; otra función molecular
THUMPD1	Proteína 1 que contiene el dominio THUMP [OS=Homo sapiens]	0.49	0.0074	nan
CSNK1A1	Caseína quinasa I isoforma alfa [OS=Homo sapiens]	0.49	0.0008	actividad quinasa;otra función molecular
UHRF1	E3 ubiquitina-proteína ligasa UHRF1 [OS=Homo sapiens]	0.49	0.0098	actividad de unión a ácidos nucleicos;otra función molecular
DHX16	Pre-mRNA-factor de empalme ATP-dependiente ARN helicasa DHX16 [OS=Homo sapiens]	0.49	0.0024	otra función molecular
SARNP	Ribonucleoproteína con dominio SAP [OS=Homo sapiens]	0.48	0.0063	actividad de unión a ácidos nucleicos;otra función molecular
DNMT1	ADN (citosina-5)-metiltransferasa 1 [OS=Homo sapiens]	0.48	0.0049	actividad de unión a ácidos nucleicos;otra función molecular
DPF2	Proteína de dedo de zinc ubi-d4 [OS=Homo sapiens]	0.48	0.0039	otra función molecular
GNL2	Proteína nucleolar de unión a GTP 2 [OS=Homo sapiens]	0.47	0.0095	otra función molecular
TNKS1BP1	Proteína de unión a tanquinasa-1 de 182 kDa [OS=Homo sapiens]	0.47	0.0046	otra función molecular
MAP2K4	Proteína quinasa activada por mitógenos de doble especificidad quinasa 4 [OS=Homo sapiens]	0.47	0.0068	actividad quinasa;otra función molecular
CTCF	Represor transcripcional CTCF [OS=Homo sapiens]	0.46	0.0047	actividad de unión a ácidos nucleicos;otra función molecular
TMPO	Polipéptido 2 asociado a laminina, isoformas beta/gamma [OS=Homo sapiens]	0.46	0.0018	actividad de unión a ácidos nucleicos;otra función molecular
SRSF7	Factor de empalme 7 rico en serina/arginina [OS=Homo sapiens]	0.46	0.0034	actividad de unión a ácidos nucleicos;otra función molecular
LIMA1	Dominio LIM y proteína de unión a actina 1 [OS=Homo sapiens]	0.45	0.0042	actividad citoesquelética;otra función molecular

Símbolo del gen	Nombre de la proteína	Cambio de plegamiento (FC)	FC Valor P	Función molecular
PPP1R18	Fostensina [OS=Homo sapiens]	0.45	0.0091	actividad citoesquelética;otra función molecular
ATXN2L	Proteína similar a la ataxina-2 [OS=Homo sapiens]	0.44	0.0097	actividad de unión a ácidos nucleicos
MARK2	Serina/treonina-proteína cinasa MARK2 [OS=Homo sapiens]	0.44	0.0023	actividad reguladora enzimática;actividad citoesquelética;actividad cinasa;otra función molecular
EPB41L2	Proteína 2 similar a la banda 4.1 [OS=Homo sapiens]	0.44	0.0044	actividad citoesquelética;otra función molecular
MT1H	Metalotioneína-1H [OS=Homo sapiens]	0.44	0.0039	otra función molecular
RBM10	Proteína de unión al ARN 10 [OS=Homo sapiens]	0.43	0.0077	actividad de unión a ácidos nucleicos;otra función molecular
PELP1	Proteína 1 rica en prolina, ácido glutámico y leucina [OS=Homo sapiens]	0.43	0.0092	otra función molecular
YTHDF3	Proteína de la familia 3 que contiene dominios YTH [OS=Homo sapiens]	0.43	0.0051	actividad de traducción;actividad de unión a ácidos nucleicos
KPNA2	Importina subunidad alfa-1 [OS=Homo sapiens]	0.42	0.0063	otra función molecular
PRRC2C	Proteína PRRC2C [OS=Homo sapiens]	0.42	0.0045	nan
MTDH	Proteína LYRIC [OS=Homo sapiens]	0.42	0.0014	actividad de unión a ácidos nucleicos;otra función molecular
RBM14	Proteína de unión a ARN 14 [OS=Homo sapiens]	0.42	0.0024	otra función molecular
RPS4X	Proteína ribosomal 40S S4, isoforma X [OS=Homo sapiens]	0.41	0.0025	actividad de unión a ácidos nucleicos;otra función molecular
PDLIM7	Proteína 7 de dominio PDZ y LIM [OS=Homo sapiens]	0.4	0.0022	actividad citoesquelética;otra función molecular
H2afy; H2AFY; MACROH2A1	Núcleo de la histona macro-H2A.1 [OS=Homo sapiens]	0.39	0.0045	actividad reguladora de enzimas;actividad de unión a ácidos nucleicos;otra función molecular
YTHDF1	Proteína de la familia 1 que contiene el dominio YTH [OS=Homo sapiens]	0.39	0.0003	actividad de traducción;actividad de unión a ácidos nucleicos
UBAP2L	Proteína asociada a la ubiquitina 2-like [OS=Homo sapiens]	0.38	0.0016	nan
RBM28	Proteína de unión a ARN 28 [OS=Homo sapiens]	0.37	0.0009	nan
SRRM2	Proteína de matriz repetitiva de serina/arginina 2 [OS=Homo sapiens]	0.37	0.0052	actividad de unión a ácidos nucleicos;otra función molecular
TAGLN2	Transgelina-2 [OS=Homo sapiens]	0.37	0.0002	actividad citoesquelética

Símbolo del gen	Nombre de la proteína	Cambio de plegamiento (FC)	FC Valor P	Función molecular
RPS16	Proteína ribosómica 40S S16 [OS=Homo sapiens]	0.36	0.0002	actividad de unión a ácidos nucleicos;otra función molecular
SMU1	Proteína SMU1 que contiene repeticiones WD40 [OS=Homo sapiens]	0.36	0.0041	nan
KIF2C	Proteína similar a la kinesina KIF2C [OS=Homo sapiens]	0.36	0.0071	actividad citoesquelética;actividad de unión a ácidos nucleicos;otra función molecular
NSA2	Proteína de la biogénesis del ribosoma homóloga a NSA2 [OS=Homo sapiens]	0.35	0.0051	nan
MAP7	Enscosina [OS=Homo sapiens]	0.35	0.0005	actividad de transducción de señales o unión a receptores; otra función molecular
DNTTIP2	Proteína 2 de interacción terminal de la desoxinucleotidiltransferasa [OS=Homo sapiens]	0.35	0.0001	nan
HP1BP3	Proteína 3 de unión a la proteína 1 de la heterocromatina [OS=Homo sapiens]	0.34	0.0045	actividad de unión a ácidos nucleicos;otra función molecular
KPNA3	Importina subunidad alfa-4 [OS=Homo sapiens]	0.34	0.0096	otra función molecular
UQCRFS1	Citocromo b-c1 subunidad del complejo Rieske, mitocondrial [OS=Homo sapiens]	0.32	0.0085	actividad transportadora;otra función molecular
LRRC47	Proteína 47 que contiene repeticiones ricas en leucina [OS=Homo sapiens]	0.31	0.0033	otra función molecular
RPS11	Proteína ribosómica 40S S11 [OS=Homo sapiens]	0.3	0.0004	actividad de unión a ácidos nucleicos;otra función molecular
RPL23	Proteína ribosómica 60S L23 [OS=Homo sapiens]	0.3	0.0013	actividad reguladora de enzimas;actividad de unión a ácidos nucleicos;otra función molecular
nan	Probable ARN helicasa dependiente de ATP DDX52 [OS=Homo sapiens]	0.3	0.0057	nan
EXOSC6	Componente del complejo exosómico MTR3 [OS=Homo sapiens]	0.3	0.006	nan
MAP1S	Proteína asociada a microtúbulos 1S [OS=Homo sapiens]	0.3	0.0086	actividad citoesquelética;actividad de unión a ácidos nucleicos;otra función molecular
HMGB2	Proteína del grupo de alta movilidad B2 [OS=Homo sapiens]	0.29	0.0011	actividad de transducción de señales o unión a receptores;actividad de unión a ácidos nucleicos;otra función molecular

Símbolo del gen	Nombre de la proteína	Cambio de plegamiento (FC)	FC Valor P	Función molecular
TCOF1	Proteína melaza [OS=Homo sapiens]	0.28	0.004	otra función molecular
RPL13	Proteína ribosómica 60S L13 [OS=Homo sapiens]	0.28	0.0097	otra función molecular
MKI67	Proteína marcadora de proliferación Ki-67 [OS=Homo sapiens]	0.28	0.0008	actividad de unión a ácidos nucleicos;otra función molecular
RPS14	Proteína ribosómica 40S S14 [OS=Homo sapiens]	0.26	0.0014	actividad de unión a ácidos nucleicos;otra función molecular
YY1	Proteína represora transcripcional YY1 [OS=Homo sapiens]	0.26	0.0066	actividad de unión a ácidos nucleicos;otra función molecular
RPL37A	Proteína ribosómica 60S L37a [OS=Homo sapiens]	0.25	0.0051	otra función molecular
SAFB	Factor de unión de andamiaje B1 [OS=Homo sapiens]	0.25	0.0088	actividad de unión a ácidos nucleicos;otra función molecular
DDX49	Probable ARN helicasa dependiente de ATP DDX49 [OS=Homo sapiens]	0.24	0.0045	otra función molecular
CDC27	Proteína homóloga 27 del ciclo de división celular [OS=Homo sapiens]	0.24	0.0036	otra función molecular
CBX8	Proteína cromobox homóloga 8 [OS=Homo sapiens]	0.24	0.0099	actividad reguladora de enzimas;actividad de unión a ácidos nucleicos;otra función molecular
RPS24	Proteína ribosómica 40S S24 [OS=Homo sapiens]	0.24	0.0099	otra función molecular
CNN2	Calponina-2 [OS=Homo sapiens]	0.23	0.0067	actividad citoesquelética;otra función molecular
TAF15	Factor 2N asociado a la proteína de unión TATA [OS=Homo sapiens]	0.23	0.0058	actividad de unión a ácidos nucleicos;otra función molecular
MARK3	MAP/microtubule affinity-regulating kinase 3 [OS=Homo sapiens]	0.22	0.0017	actividad citoesquelética;actividad quinasa;otra función molecular
TRIM32	E3 ubiquitina-proteína ligasa TRIM32 [OS=Homo sapiens]	0.22	0.0045	actividad citoesquelética;actividad de unión a ácidos nucleicos;otra función molecular
MAP4	Proteína 4 asociada a microtúbulos [OS=Homo sapiens]	0.22	0.0023	actividad citoesquelética;otra función molecular
NOLC1	Fosfoproteína nucleolar y de cuerpo en espiral 1 [OS=Homo sapiens]	0.2	0.002	actividad de unión a ácidos nucleicos;otra función molecular
MDC1	Mediador del punto de control del daño del ADN proteína 1 [OS=Homo sapiens]	0.2	0.0038	nan
LARP1	Proteína 1 relacionada con La [OS=Homo sapiens]	0.19	0.0008	actividad de traducción;actividad de unión a ácidos nucleicos;otra función molecular

Símbolo del gen	Nombre de la proteína	Cambio de plegamiento (FC)	FC Valor P	Función molecular
PRKAR1A	Subunidad reguladora de la proteína cinasa dependiente de AMPc tipo I-alfa [OS=Homo sapiens]	0.19	0.0031	actividad reguladora enzimática;otra función molecular
RPS8	Proteína ribosómica 40S S8 [OS=Homo sapiens]	0.18	0.0059	otra función molecular
RPL26	Proteína ribosómica 60S L26 [OS=Homo sapiens]	0.18	0.0096	actividad de unión a ácidos nucleicos;otra función molecular
MINK1	Misshapen-like kinase 1 [OS=Homo sapiens]	0.17	0.0056	actividad quinasa;otra función molecular
H1-1	Histona H1.1 [OS=Homo sapiens]	0.16	0.0002	actividad de unión a ácidos nucleicos;otra función molecular
RRP1B	Proteína de procesamiento del ARN ribosómico 1 homóloga B [OS=Homo sapiens]	0.16	0.0073	otra función molecular
SRRM1	Proteína de matriz repetitiva de serina/arginina 1 [OS=Homo sapiens]	0.16	0.0001	actividad de unión a ácidos nucleicos
HNRNPA3	Ribonucleoproteína nuclear heterogénea A3 [OS=Homo sapiens]	0.16	0.0018	actividad transportadora;actividad de unión a ácidos nucleicos
PPME1	Proteína fosfatasa metilesterasa 1 [OS=Homo sapiens]	0.15	0.0	actividad reguladora de enzimas;actividad de unión a ácidos nucleicos;otra función molecular
RPL32	Proteína ribosómica 60S L32 [OS=Homo sapiens]	0.15	0.0004	otra función molecular
UTP18	Proteína 18 homóloga del ARN nucleolar pequeño U3 [OS=Homo sapiens]	0.14	0.0062	nan
RRM2	Subunidad M2 de la ribonucleósido-difosfato reductasa [OS=Homo sapiens]	0.14	0.0029	otra función molecular
H1-2	Histona H1.2 [OS=Homo sapiens]	0.14	0.0067	actividad de unión a ácidos nucleicos;otra función molecular
RPL36AL	Proteína ribosómica 60S L36a-like [OS=Homo sapiens]	0.14	0.0081	otra función molecular
RPS29	Proteína ribosómica 40S S29 [OS=Homo sapiens]	0.12	0.0013	otra función molecular
RRN3	Factor de iniciación de la transcripción específico de la ARN polimerasa I RRN3 [OS=Homo sapiens]	0.11	0.0005	actividad de unión a ácidos nucleicos;otra función molecular
RFC4	Factor de replicación C subunidad 4 [OS=Homo sapiens]	0.1	0.0031	actividad de unión a ácidos nucleicos;otra función molecular
BAZ1B	Tirosina-proteína quinasa BAZ1B [OS=Homo sapiens]	0.09	0.0051	actividad quinasa;otra función molecular

Símbolo del gen	Nombre de la proteína	Cambio de plegamiento (FC)	FC Valor P	Función molecular
EIF4H	Factor de iniciación de la traducción eucariota 4H [OS=Homo sapiens]	0.08	0.0008	actividad de unión a ácidos nucleicos
H1-10	Histona H1.10 [OS=Homo sapiens]	0.08	0.0045	actividad de unión a ácidos nucleicos;otra función molecular
H1-4	Histona H1.4 [OS=Homo sapiens]	0.07	0.006	actividad de unión a ácidos nucleicos;otra función molecular
RPL39	Proteína ribosómica 60S L39 [OS=Homo sapiens]	0.06	0.0096	actividad de unión a ácidos nucleicos;otra función molecular
LAD1	Ladinina-1 [OS=Homo sapiens]	0.05	0.0002	otra función molecular
HMGA1	Proteína del grupo de alta movilidad HMG-I/HMG-Y [OS=Homo sapiens]	0.01	0.0025	actividad de transducción de señales o unión a receptores;actividad de unión a ácidos nucleicos;otra función molecular
HMGA2	Proteína del grupo de alta movilidad HMGI-C [OS=Homo sapiens]	0.01	0.0081	actividad de unión a ácidos nucleicos;otra función molecular

BIBLIOGRAFÍA

- © ibidi GmbH. (2019). ibidi Application Guide: Wound Healing and Migration Assays. In *Guide*. https://ibidi.com/img/cms/resources/AG/FL_AG_033_Wound_Healing_150dpi.pdf
- Aburto, I., Espinoza, G., Silva, V., Rodríguez, H., & Moreno, G. (2017). COSTO EFECTIVIDAD EN PROTOCOLOS DE LIMPIEZA DE LA PIEL EN PACIENTES CON ÚLCERAS. *Revista Chilena de Heridas & Ostomias*, 8, 8. <https://inheridas.cl/wp-content/uploads/2017/12/Revista-2017-web.pdf>
- Aburto, I., & Morgado, P. (2010). GESTION EN MANEJO AVANZADO DE HERIDAS Y ULCERAS EN CHILE. *Revista Chilena de Heridas & Ostomias*, 7. https://inheridas.cl/wp-content/uploads/2017/03/Revista-Hetidas_1.pdf
- Adrian Nisca, Sanziana Sisea, Nastaca Alina Coman, Mihai Babota, Oleg Frumuzachi, & Corneliu Tanase. (2024). *Biological profiles of Q. cerris, Q. dalechampii, and Q. robur bark extracts: A characterization study*. *Acta Marisiensis - Seria Medica*. <https://doi.org/10.2478/amma-2024-0003>
- Ahmad, A., Davies, J., Randall, S., & Skinner, G. R. B. (1996). Antiviral properties of extract of *Opuntia streptacantha*. *Antiviral Research*, 30(2–3), 75–85. [https://doi.org/10.1016/0166-3542\(95\)00839-X](https://doi.org/10.1016/0166-3542(95)00839-X)
- Ahmad, N. (2022). In Vitro and In Vivo Characterization Methods for Evaluation of Modern Wound Dressings. *Pharmaceutics*, 15(1), 42. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15010042>
- Ahmad, W., Zeenat, F., Hasan, A., Abdullah, A., Nargis, A., & Tarannum, T. (2011). *Mazu (Quercus infectoria, Oliv)- An Overview*. 4.
- Ahmed, E. M. (2015). Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review. In *Journal of Advanced Research* (Vol. 6, Issue 2, pp. 105–121). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2013.07.006>
- Ahmed, M., Fatima, H., Qasim, M., Gul, B., & Ihsan-ul-Haq. (2017). Polarity directed optimization of phytochemical and in vitro biological potential of an indigenous folklore: *Quercus dilatata* Lindl. ex Royle. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17(1), 386. <https://doi.org/10.1186/s12906-017-1894-x>
- Anlas, C., Bakirel, T., Ustun-Alkan, F., Celik, B., Yuzbasioglu Baran, M., Ustuner, O., & Kuruuzum-Uz, A. (2019). In vitro evaluation of the therapeutic potential of Anatolian kermes oak (*Quercus coccifera* L.) as an alternative wound healing agent. *Industrial Crops and Products*, 137, 24–32. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.05.008>
- Antoine, E. E., Vlachos, P. P., & Rylander, M. N. (2014). Review of collagen i hydrogels for bioengineered tissue microenvironments: Characterization of mechanics, structure, and transport. In *Tissue Engineering - Part B: Reviews* (Vol. 20, Issue 6, pp. 683–696). Mary Ann Liebert Inc. <https://doi.org/10.1089/ten.teb.2014.0086>
- Arwert, E. N., Hoste, E., & Watt, F. M. (2012). Epithelial stem cells, wound healing and cancer. In *Nature Reviews Cancer* (Vol. 12, Issue 3, pp. 170–180). <https://doi.org/10.1038/nrc3217>
- Balaban, M., & Uçar, G. (2003). Estimation of volatile acids in wood and bark. *Holz Als Roh- Und Werkstoff*, 61(6), 465–468. <https://doi.org/10.1007/s00107-003-0422-5>

- Banc, R., Rusu, M. E., Filip, L., & Popa, D. S. (2023). Phytochemical Profiling and Biological Activities of *Quercus* sp. Galls (Oak Galls): A Systematic Review of Studies Published in the Last 5 Years. In *Plants* (Vol. 12, Issue 22). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/plants12223873>
- Barta, C., Bolander, B., Bilby, S., Brown, J., Brown, R., Duryee, A., Edelman, D., Gray, C., Gossett, C., Haddock, A., Helsel, M., Jones, A., Klingseis, M., Leslie, K., Miles, E., & Prawitz, R. (2017). In Situ Dark Adaptation Enhances the Efficiency of DNA Extraction from Mature Pin Oak (*Quercus palustris*) Leaves, Facilitating the Identification of Partial Sequences of the 18S rRNA and Isoprene Synthase (IspS) Genes. *Plants*, *6*(4), 52. <https://doi.org/10.3390/plants6040052>
- Belter, A., Skupinska, M., Giel-Pietraszuk, M., Grabarkiewicz, T., Rychlewski, L., & Barciszewski, J. (2011). Squalene monooxygenase – a target for hypercholesterolemic therapy. *Bchm*, *392*(12), 1053–1075. <https://doi.org/10.1515/BC.2011.195>
- Berniak, K., Moradi, A., Lichawska-Cieslar, A., Szukala, W., Jura, J., & Stachewicz, U. (2024). Controlled therapeutic cholesterol delivery to cells for the proliferation and differentiation of keratinocytes. *Journal of Materials Chemistry B*, *12*(43), 11110–11122. <https://doi.org/10.1039/D4TB01015A>
- Beserra, F. P., Vieira, A. J., Gushiken, L. F. S., de Souza, E. O., Hussni, M. F., Hussni, C. A., Nóbrega, R. H., Martinez, E. R. M., Jackson, C. J., de Azevedo Maia, G. L., Rozza, A. L., & Pellizzon, C. H. (2019). Lupeol, a Dietary Triterpene, Enhances Wound Healing in Streptozotocin-Induced Hyperglycemic Rats with Modulatory Effects on Inflammation, Oxidative Stress, and Angiogenesis. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, *2019*, 1–20. <https://doi.org/10.1155/2019/3182627>
- Blando, F., Russo, R., Negro, C., De Bellis, L., & Frassinetti, S. (2019). Antimicrobial and Antibiofilm Activity against *Staphylococcus aureus* of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. Cladode Polyphenolic Extracts. *Antioxidants*, *8*(5), 117. <https://doi.org/10.3390/antiox8050117>
- Boateng, J. S., Matthews, K. H., Stevens, H. N. E., & Eccleston, G. M. (2008). Wound healing dressings and drug delivery systems: A review. In *Journal of Pharmaceutical Sciences* (Vol. 97, Issue 8, pp. 2892–2923). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1002/jps.21210>
- Bowler, P. G., Duerden, B. I., & Armstrong, D. G. (2001). Wound microbiology and associated approaches to wound management. In *Clinical Microbiology Reviews* (Vol. 14, Issue 2, pp. 244–269). American Society for Microbiology Journals. <https://doi.org/10.1128/CMR.14.2.244-269.2001>
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, *72*(1–2), 248–254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, *28*(1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Brazil, J. C., Quiros, M., Nusrat, A., & Parkos, C. A. (2019). Innate immune cell–epithelial crosstalk during wound repair. *Journal of Clinical Investigation*, *129*(8), 2983–2993. <https://doi.org/10.1172/JCI124618>
- Bremner, J. M. (1965). Total Nitrogen. In A. G. Norman (Ed.), *Methods of Soil Analysis* (pp. 1149–1178). <https://doi.org/10.2134/agronmonogr9.2.c32>
- C. Linnaeus. (1753). *Species Plantarum* (Vol. 2). Laurentii Salvii.

- Cañedo-Dorantes, L., & Cañedo-Ayala, M. (2019). Skin acute wound healing: A comprehensive review. In *International Journal of Inflammation* (Vol. 2019). Hindawi Limited. <https://doi.org/10.1155/2019/3706315>
- Cavanagh, P., Attinger, C., Abbas, Z., Bal, A., Rojas, N., & Xu, Z. (2012). Cost of treating diabetic foot ulcers in five different countries. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 28(S1), 107–111. <https://doi.org/10.1002/dmrr.2245>
- Chauhan, P. S., Bisht, S., & Ahmed, S. (2017). Traditional and ethnobotanical uses of medicinal trees in district Tehri Garhwal (Western Himalayas). *International Journal of Ayurvedic and Herbal Medicine*, 7(1), 2442–2448.
- Chen, H.-L., Wang, Q.-Y., Qi, R.-M., & Cai, J.-P. (2024). Identification of the changes in the platelet proteomic profile of elderly individuals. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 11. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2024.1384679>
- Chen, Y., Tian, L., Yang, F., Tong, W., Jia, R., Zou, Y., Yin, L., Li, L., He, C., Liang, X., Ye, G., Lv, C., Song, X., & Yin, Z. (2019). Tannic Acid Accelerates Cutaneous Wound Healing in Rats Via Activation of the ERK 1/2 Signaling Pathways. *Advances in Wound Care*, 8(7), 341–354. <https://doi.org/10.1089/wound.2018.0853>
- Chevallier, A. (2016). *Encyclopedia of Herbal Medicine*. . DK Publishing.
- Chokpaisarn, J., Chusri, S., Amnuakit, T., Udomuksorn, W., & Voravuthikunchai, S. P. (2017). Potential wound healing activity of *Quercus infectoria* formulation in diabetic rats. *PeerJ*, 2017(7), e3608. <https://doi.org/10.7717/peerj.3608>
- Chokpaisarn, J., Chusri, S., & Voravuthikunchai, S. P. (2020). Clinical randomized trial of topical *Quercus infectoria* ethanolic extract for the treatment of chronic diabetic ulcers. *Journal of Herbal Medicine*, 21, 100301. <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2019.100301>
- Cioanca, O., Lungu, I.-I., Batir-Marin, D., Lungu, A., Marin, G.-A., Huzum, R., Stefanache, A., Sekeroglu, N., & Hancianu, M. (2025). Modulating Polyphenol Activity with Metal Ions: Insights into Dermatological Applications. *Pharmaceutics*, 17(2), 194. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics17020194>
- Coquet, C., Ferré, E., Peyronel, D., Dal Farra, C., & Farnet, A. M. (2008). Identification of new molecules extracted from *Quercus suber* L. cork. *Comptes Rendus. Biologies*, 331(11), 853–858. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2008.08.011>
- Coyotl-Martinez, E., Hernández-Rivera, J. A., Parra-Suarez, J. L. A., Reyes-Carmona, S. R., & Carrasco-Carballo, A. (2025). Phytochemical Profile, Antioxidant and Antimicrobial Activity of Two Species of Oak: *Quercus sartorii* and *Quercus rysophylla*. *Applied Biosciences*, 4(1), 13. <https://doi.org/10.3390/applbiosci4010013>
- Cruz-Acuña, R., & García, A. J. (2017). Synthetic hydrogels mimicking basement membrane matrices to promote cell-matrix interactions. In *Matrix Biology* (Vols. 57–58, pp. 324–333). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2016.06.002>
- Dardmah, F., & Farahpour, M. R. (2021). *Quercus infectoria* gall extract aids wound healing in a streptozocin-induced diabetic mouse model. *Journal of Wound Care*, 30(8), 618–625. <https://doi.org/10.12968/jowc.2021.30.8.618>

- De Azevedo Ribeiro, R. C., Barreto, S. M. A. G., Ostrosky, E. A., Da Rocha-Filho, P. A., Veríssimo, L. M., & Ferrari, M. (2015). Production and characterization of cosmetic nanoemulsions containing *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill extract as moisturizing agent. *Molecules*, *20*(2), 2492–2509. <https://doi.org/10.3390/molecules20022492>
- Deters, A. M., Meyer, U., & Stintzing, F. C. (2012). Time-dependent bioactivity of preparations from cactus pear (*Opuntia ficus indica*) and ice plant (*Mesembryanthemum crystallinum*) on human skin fibroblasts and keratinocytes. *Journal of Ethnopharmacology*, *142*(2), 438–444. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.05.014>
- Di Novella, R., Di Novella, N., De Martino, L., Mancini, E., & De Feo, V. (2013). Traditional plant use in the National Park of Cilento and Vallo di Diano, Campania, Southern, Italy. *Journal of Ethnopharmacology*, *145*(1), 328–342. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.10.065>
- Díaz, M. del S. S., Rosa, A.-P. B. de la, Héliès-Toussaint, C., Guéraud, F., & Nègre-Salvayre, A. (2017). *Opuntia* spp.: Characterization and Benefits in Chronic Diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/8634249>
- Díaz, R. T. A., Chabrilón, M., Cabello-Pasini, A., Gómez-Pinchetti, J. L., & Figueroa, F. L. (2011). Characterization of polysaccharides from *Hypnea spinella* (Gigartinales) and *Halopithys incurva* (Ceramiales) and their effect on RAW 264.7 macrophage activity. *Journal of Applied Phycology*, *23*(3), 523–528. <https://doi.org/10.1007/s10811-010-9622-7>
- Dok-Go, H., Lee, K. H., Kim, H. J., Lee, E. H., Lee, J., Song, Y. S., Lee, Y. H., Jin, C., Lee, Y. S., & Cho, J. (2003). Neuroprotective effects of antioxidative flavonoids, quercetin, (+)-dihydroquercetin and quercetin 3-methyl ether, isolated from *Opuntia ficus-indica* var. *saboten*. *Brain Research*, *965*(1–2), 130–136. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(02\)04150-1](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(02)04150-1)
- Dolatkhahi, M., Dolatkhahi, A., & Nejad, J. B. (2014). Ethnobotanical study of medicinal plants used in Arjan - Parishan protected area in Fars Province of Iran. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, *4*(6), 402–412.
- Drózd, P., & Pырzyska, K. (2018). Assessment of polyphenol content and antioxidant activity of oak bark extracts. In *European Journal of Wood and Wood Products* (Vol. 76, Issue 2, pp. 793–795). <https://doi.org/10.1007/s00107-017-1280-x>
- DuBois, Michel., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., & Smith, Fred. (1956). Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Analytical Chemistry*, *28*(3), 350–356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>
- EDQM. (2017). *European Pharmacopoeia (Ph. Eur.)*.
- El-Darier, S. M., & El-Mokasabi, F. M. (2014). Floristic Composition and Traditional Uses of Plant Species at Wadi Alkuf, Al-Jabal Al-Akhder, Libya. *J. Agric. & Environ. Sci*, *14*(8), 685–697. <https://doi.org/10.5829/idosi.ajeaes.2014.14.08.12375>
- Ennouri, M., Fetoui, H., Bourret, E., Zeghal, N., & Attia, H. (2006). Evaluation of some biological parameters of *Opuntia ficus indica*. 1. Influence of a seed oil supplemented diet on rats. *Bioresource Technology*, *97*(12), 1382–1386. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.07.010>
- ESMON, C. T., XU, J., & LUPU, F. (2011). Innate immunity and coagulation. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, *9*, 182–188. <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2011.04323.x>

- Filiseti-Cozzi, T. M. C. C., & Carpita, N. C. (1991). Measurement of uronic acids without interference from neutral sugars. *Analytical Biochemistry*, *197*(1), 157–162. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(91\)90372-Z](https://doi.org/10.1016/0003-2697(91)90372-Z)
- Firlar, I., Altunbek, M., McCarthy, C., Ramalingam, M., & Camci-Unal, G. (2022). Functional Hydrogels for Treatment of Chronic Wounds. In *Gels* (Vol. 8, Issue 2). MDPI. <https://doi.org/10.3390/gels8020127>
- Flier, J. S., Underhill, L. H., & Dvorak, H. F. (1986). Tumors: Wounds That Do Not Heal. In *New England Journal of Medicine* (Vol. 315, Issue 26, pp. 1650–1659). Massachusetts Medical Society. <https://doi.org/10.1056/NEJM198612253152606>
- Forni, E., Penci, M., & Polesello, A. (1994). A preliminary characterization of some pectins from quince fruit (*Cydonia oblonga* Mill.) and prickly pear (*Opuntia ficus indica*) peel. *Carbohydrate Polymers*, *23*(4), 231–234. [https://doi.org/10.1016/0144-8617\(94\)90183-X](https://doi.org/10.1016/0144-8617(94)90183-X)
- Frykberg, R. G., & Banks, J. (2015). Challenges in the Treatment of Chronic Wounds. *Advances in Wound Care*, *4*(9), 560–582. <https://doi.org/10.1089/wound.2015.0635>
- Galati, E. M., Pergolizzi, S., Miceli, N., Monforte, M. T., & Tripodo, M. M. (2002). Study on the increment of the production of gastric mucus in rats treated with *Opuntia ficus indica* (L.) Mill. cladodes. *Journal of Ethnopharmacology*, *83*(3), 229–233. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(02\)00243-X](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(02)00243-X)
- García-Márquez, J., Moreira, B. R., Valverde-Guillén, P., Latorre-Redoli, S., Caneda-Santiago, C. T., Ación, G., Martínez-Manzanares, E., Marí-Beffa, M., & Abdala-Díaz, R. T. (2023). In Vitro and In Vivo Effects of Ulvan Polysaccharides from *Ulva rigida*. *Pharmaceuticals*, *16*(5). <https://doi.org/10.3390/ph16050660>
- Ghasemi, M., Turnbull, T., Sebastian, S., & Kempson, I. (2021). The MTT Assay: Utility, Limitations, Pitfalls, and Interpretation in Bulk and Single-Cell Analysis. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(23), 12827. <https://doi.org/10.3390/ijms222312827>
- Ghosh, P. K., & Gaba, A. (2013). Phyto-extracts in wound healing. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, *16*(5), 760–820. <https://doi.org/10.18433/j3831v>
- Gómez, M. (2017). EFECTO DE UNA CREMA ELABORADA CON EL MUCILAGO DEL CLADODIO DEL NOPAL “tuna” (*Opuntia ficus indica* (L) Mill.) EN LA CICATRIZACION DE HERIDAS EN COBAYOS (*Cavia porcellus*) AYACUCHO - 2014. In *Tesis*. https://www.inei.gob.pe/media/MenuRecursivo/boletines/boletin_agua.pdf
- Graça, J., & Santos, S. (2007). Suberin: A Biopolyester of Plants’ Skin. *Macromolecular Bioscience*, *7*(2), 128–135. <https://doi.org/10.1002/mabi.200600218>
- Guarrera, P. M., Forti, G., & Marignoli, S. (2005). Ethnobotanical and ethnomedicinal uses of plants in the district of Acquapendente (Latium, Central Italy). *Journal of Ethnopharmacology*, *96*(3), 429–444. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.09.014>
- Guevara-Figueroa, T., Jiménez-Islas, H., Reyes-Escogido, M. L., Mortensen, A. G., Laursen, B. B., Lin, L. W., De León-Rodríguez, A., Fomsgaard, I. S., & Barba de la Rosa, A. P. (2010). Proximate composition, phenolic acids, and flavonoids characterization of commercial and wild nopal (*Opuntia* spp.). *Journal of Food Composition and Analysis*, *23*(6), 525–532. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2009.12.003>
- Gurtner, G., Werner, S., Barrandon, Y., & Longaker, M. (2008). Reparación y regeneración de heridas. *Nature*. https://idp.nature.com/authorize/casa?redirect_uri=https://www.nature.com/articles/nature07039&casa

_token=gzpfQ8W_iHsAAAAA:nn_gHrVRB8hUVrazx-DOER3nitYTRdauQY-
C6M6cntip3nLhOega_BG5Xqag2M48t9mxELLHPd-xzVgLn54

- Han, G., & Ceilley, R. (2017). Chronic Wound Healing: A Review of Current Management and Treatments. In *Advances in Therapy* (Vol. 34, Issue 3, pp. 599–610). Springer Healthcare. <https://doi.org/10.1007/s12325-017-0478-y>
- Hapidin, H., Rozelan, D., Abdullah, H., Wan Hanaffi, W. N., & Soelaiman, I. N. (2015). Quercus infectoria Gall Extract Enhanced the Proliferation and Activity of Human Fetal Osteoblast Cell Line (hFOB 1.19). *The Malaysian Journal of Medical Sciences : MJMS*, 22(1), 12–22.
- Harrison, I. P., & Spada, F. (2018). Hydrogels for atopic dermatitis and wound management: A superior drug delivery vehicle. In *Pharmaceutics* (Vol. 10, Issue 2, p. 71). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics10020071>
- HARVEN SA, & DARIO, M. (2015). *ANTI-HERPES COMPOSITION AND ANTI-HERPES PHARMACEUTICAL FORMULATION* (Patent WO2017013568A1).
- Harvey, A. L. (2008). Natural products in drug discovery. In *Drug Discovery Today* (Vol. 13, Issues 19–20, pp. 894–901). Elsevier Current Trends. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2008.07.004>
- Haslam, E. (2007). Vegetable tannins – Lessons of a phytochemical lifetime. *Phytochemistry*, 68(22–24), 2713–2721. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2007.09.009>
- Histocell. (2024). *REOXCARE: PRODUCTOS PARA EL CUIDADO DE LA PIEL Y LAS HERIDAS*. www.reoxcare.com
- Hong, J.-A., Bae, D., Oh, K.-N., Oh, D.-R., Kim, Y., Kim, Y., Jeong Im, S., Choi, E., Lee, S., Kim, M., Jeong, C., & Choi, C. Y. (2022). Protective effects of Quercus acuta Thunb. fruit extract against UVB-induced photoaging through ERK/AP-1 signaling modulation in human keratinocytes. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 22(1), 6. <https://doi.org/10.1186/s12906-021-03473-1>
- HONGQIANG, Q., JIANGPING, W., & JIANWEI, X. (2018). *Chilblain ointment using oak and pine extracting solutions and preparation method of chilblain ointment* (Patent CN111298023A). <https://worldwide.espacenet.com/patent/search/family/071161306/publication/CN111298023A?q=CN111298023A>
- Hosein Farzaei, M., Abbasabadi, Z., Reza Shams-Ardekani, M., Abdollahi, M., & Rahimi, R. (2014). A comprehensive review of plants and their active constituents with wound healing activity in traditional Iranian medicine. *Wounds : A Compendium of Clinical Research and Practice*, 26(7), 197–206.
- Hussain, F., Islam, M., & Zaman, A. (2006). ETHNOBOTANICAL PROFILE OF PLANTS OF SHAWAR VALLEY, DISTRICT SWAT, PAKISTAN. In *INT. J. BIOL. BIOTECH* (Vol. 3, Issue 2).
- Iismaa, S. E., Kaidonis, X., Nicks, A. M., Bogush, N., Kikuchi, K., Naqvi, N., Harvey, R. P., Husain, A., & Graham, R. M. (2018). Comparative regenerative mechanisms across different mammalian tissues. *Npj Regenerative Medicine*, 3(1), 6. <https://doi.org/10.1038/s41536-018-0044-5>
- Iosageanu, A., Mihai, E., Seciu-Grama, A.-M., Utoiu, E., Gaspar-Pintiliescu, A., Gatea, F., Cimpean, A., & Craciunescu, O. (2024). In Vitro Wound-Healing Potential of Phenolic and Polysaccharide Extracts of Aloe vera Gel. *Journal of Functional Biomaterials*, 15(9), 266. <https://doi.org/10.3390/jfb15090266>

- Jacobs, A. M., & Tomczak, R. (2008). Evaluation of Bensa HP for the Treatment of Diabetic Foot Ulcers. *Advances in Skin & Wound Care*, 21(10), 461–465. <https://doi.org/10.1097/01.ASW.0000323573.57206.7b>
- Joshi, A. K., & Juyal, D. (2017). Traditional and ethnobotanical uses of *Quercus leucotrichophora* a. Camus (*Quercus oblongata* D. Don) in Kumaun and Garhwal regions of Uttarakhand, India: a review. *International Journal of Herbal Medicine*, 5(5), 6–8.
- Kargioğlu, M., Cenkci, S., Serteser, A., Konuk, M., & Vural, G. (2010). Traditional Uses of Wild Plants in the Middle Aegean Region of Turkey. *Human Ecology*, 38(3), 429–450. <https://doi.org/10.1007/s10745-010-9318-2>
- Karioti, A., Bilia, A. R., Gabbiani, C., Messori, L., & Skaltsa, H. (2009). Proanthocyanidin glycosides from the leaves of *Quercus ilex* L. (Fagaceae). *Tetrahedron Letters*, 50(16), 1771–1776. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2009.01.158>
- Kazmi, S. T. B., Majid, M., Maryam, S., Rahat, A., Ahmed, M., Khan, M. R., & Haq, I. ul. (2018). *Quercus dilatata* Lindl. ex Royle ameliorates BPA induced hepatotoxicity in Sprague Dawley rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 102, 728–738. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.03.097>
- Kim, H., Song, M.-J., & Potter, D. (2006). Medicinal efficacy of plants utilized as temple food in traditional Korean Buddhism. *Journal of Ethnopharmacology*, 104(1–2), 32–46. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.08.041>
- Kim, J.-H., Park, S.-M., Ha, H.-J., Moon, C.-J., Shin, T.-K., Kim, J.-M., Lee, N.-H., Kim, H.-C., Jang, K.-J., & Wie, M.-B. (2006). *Opuntia ficus-indica* attenuates neuronal injury in in vitro and in vivo models of cerebral ischemia. *Journal of Ethnopharmacology*, 104(1–2), 257–262. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.09.017>
- Ko, B.-S., Lee, H. W., Kim, D. S., Kang, S., Ryuk, J. A., & Park, S. (2014). Supplementing with *Opuntia ficus-indica* Mill and *Dioscorea nipponica* Makino extracts synergistically attenuates menopausal symptoms in estrogen-deficient rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 155(1), 267–276. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.05.020>
- Kopeček, J. (2002). Polymer chemistry: Swell gels. In *Nature* (Vol. 417, Issue 6887, pp. 388–391). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/417388a>
- Ktari, N., Gargouri, W., Jlaiel, L., Trabelsi, I., Ben Slima, S., Bardaa, S., Bendali, F., & Ben Salah, R. (2024). Extraction, Purification, Characterization, and Wound Healing Effects of Novel Prickly Pear (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.) Heteropolysaccharides. *Pharmaceuticals*, 17(10), 1410. <https://doi.org/10.3390/ph17101410>
- KUM, J. P., PARK, S. K., & OH, S. T. (2009). *Cosmetic Composition Comprising Opuntia Five Element Tea Mixed Extract For Improving Atopic skin And Manufacturing Method Thereof And Cosmetic Material Containing The Same* (Patent KR101142977B1).
- Kuzu, O. F., Noory, M. A., & Robertson, G. P. (2016). The Role of Cholesterol in Cancer. *Cancer Research*, 76(8), 2063–2070. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-15-2613>
- Lajud, S. A., Nagda, D. A., Qiao, P., Tanaka, N., Civantos, A., Gu, R., Cheng, Z., Tsourkas, A., O'Malley, B. W., & Li, D. (2015). A novel chitosan-hydrogel-based nanoparticle delivery system for local inner ear application. *Otology and Neurotology*, 36(2), 341–347. <https://doi.org/10.1097/MAO.0000000000000445>
- Lam, J., Truong, N. F., & Segura, T. (2014). Design of cell-matrix interactions in hyaluronic acid hydrogel scaffolds. In *Acta Biomaterialia* (Vol. 10, Issue 4, pp. 1571–1580). Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2013.07.025>

- Landén, N. X., Li, D., & Ståhle, M. (2016). Transition from inflammation to proliferation: a critical step during wound healing. *Cellular and Molecular Life Sciences*, *73*(20), 3861–3885. <https://doi.org/10.1007/s00018-016-2268-0>
- Lefsih, K., Giacomazza, D., Passantino, R., Costa, M. A., Bulone, D., Mangione, M. R., Guarrasi, V., Mingoia, F., San Biagio, P. L., & Madani, K. (2018). Biochemical and biophysical characterization of water-soluble pectin from *Opuntia ficus-indica* and its potential cytotoxic activity. *Phytochemistry*, *154*, 47–55. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2018.06.015>
- Lepesheva, G. I., & Waterman, M. R. (2004). CYP51—the omnipotent P450. *Molecular and Cellular Endocrinology*, *215*(1–2), 165–170. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2003.11.016>
- Liu, J., Ma, L., Chen, Z., Song, Y., Gu, T., Liu, X., Zhao, H., & Yao, N. (2020). Identification of critical genes in gastric cancer to predict prognosis using bioinformatics analysis methods. *Annals of Translational Medicine*, *8*(14), 884–884. <https://doi.org/10.21037/atm-20-4427>
- Luo, J., Yang, H., & Song, B.-L. (2020). Mechanisms and regulation of cholesterol homeostasis. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, *21*(4), 225–245. <https://doi.org/10.1038/s41580-019-0190-7>
- Luu, W., Sharpe, L. J., Capell-Hattam, I., Gelissen, I. C., & Brown, A. J. (2016). Oxysterols: Old Tale, New Twists. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, *56*(1), 447–467. <https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-010715-103233>
- Maaloul, A., Pérez Manríquez, C., Decara, J., Marí-Beffa, M., Álvarez-Torres, D., Latorre Redoli, S., Martínez-Albardonedo, B., Araya-Rojas, M., Fajardo, V., & Abdala Díaz, R. T. (2025). Biological Effects of Polysaccharides from *Bovistella utrififormis* as Cytotoxic, Antioxidant, and Antihyperglycemic Agents: In Vitro and In Vivo Studies. *Pharmaceutics*, *17*(3), 335. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics17030335>
- Mady, M. S., Ibrahim, R. R., El-Sayed, E. K., El-Shazly, M., Chen, L. Y., Lai, K. H., El Shaarawy, F. S., & Moharram, F. A. (2023). UHPLC-MS profiles and antidiarrheal activity of *Quercus coccinea* münchh. and *Quercus robur* L. employing in vivo technique. *Frontiers in Pharmacology*, *14*. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1120146>
- Marcińczyk, N., Gromotowicz-Popławska, A., Tomczyk, M., & Chabielska, E. (2022). Tannins as Hemostasis Modulators. *Frontiers in Pharmacology*, *12*. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.806891>
- Maryam, J., Bushra, M., Abida, Y., & Mir, A. K. (2012). Pharmacological activities of selected plant species and their phytochemical analysis. *Journal of Medicinal Plants Research*, *6*(37), 5013–5022. <https://doi.org/10.5897/jmpr09.259>
- Matthäus, B., & Özcan, M. M. (2011). Habitat effects on yield, fatty acid composition and tocopherol contents of prickly pear (*Opuntia ficus-indica* L.) seed oils. *Scientia Horticulturae*, *131*, 95–98. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.09.027>
- Mauffette, Y., & Oechel, W. C. (1989). Seasonal variation in leaf chemistry of the coast live oak *Quercus agrifolia* and implications for the California oak moth *Phryganidia californica*. *Oecologia*, *79*(4), 439–445. <https://doi.org/10.1007/BF00378658>
- McCarty, K. D., Sullivan, M. E., Tateishi, Y., Hargrove, T. Y., Lepesheva, G. I., & Guengerich, F. P. (2023). Processive kinetics in the three-step lanosterol 14 α -demethylation reaction catalyzed by human cytochrome P450 51A1. *Journal of Biological Chemistry*, *299*(7), 104841. <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2023.104841>

- MI Hernández-Urbiola, M. C.-P. E. P.-T. G. H.-Q. J. R.-M. M. R.-G. (2011). Study of nutritional composition of nopal (*Opuntia ficus-indica* cv. Redonda) at different maturity stages. *Open Nutr J.*, 4, 1–6. <https://doi.org/10.2174/1876396001104010001>
- MOON, H. R., CHUNG, M. J., PARK, J. W., CHO, S. M., CHOI, D. J., KIM, S. M., CHUN, M. H., KIM, I.-B., KIM, S. O., JANG, S. J., & PARK, Y. IL. (2013). Antiasthma effects through anti-inflammatory action of acorn (*quercus Acutissimacarr.*) in vitro and in vivo. *Journal of Food Biochemistry*, 37(1), 108–118. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.2012.00652.x>
- Morton, L. M., & Phillips, T. J. (2016). Wound healing and treating wounds. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 74(4), 589–605. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2015.08.068>
- Mosaddegh, M., Naghibi, F., Moazzeni, H., Pirani, A., & Esmaeili, S. (2012). Ethnobotanical survey of herbal remedies traditionally used in Kohghiluyeh va Boyer Ahmad province of Iran. *Journal of Ethnopharmacology*, 141(1), 80–95. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.02.004>
- Murphy, J., & Riley, J. P. (1962). A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta*, 27, 31–36. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(00\)88444-5](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(00)88444-5)
- Nam, D.-G., Yang, H.-S., Bae, U.-J., Park, E., Choi, A.-J., & Choe, J.-S. (2023). The Cactus (*Opuntia ficus-indica*) Cladodes and Callus Extracts: A Study Combined with LC-MS Metabolic Profiling, In-Silico, and In-Vitro Analyses. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 12(7). <https://doi.org/10.3390/antiox12071329>
- Neves, J. M., Matos, C., Moutinho, C., Queiroz, G., & Gomes, L. R. (2009). Ethnopharmacological notes about ancient uses of medicinal plants in Trás-os-Montes (northern of Portugal). *Journal of Ethnopharmacology*, 124(2), 270–283.
- Nourian Dehkordi, A., Mirahmadi Babaheydari, F., Chehelgerdi, M., & Raeisi Dehkordi, S. (2019). Skin tissue engineering: Wound healing based on stem-cell-based therapeutic strategies. In *Stem Cell Research and Therapy* (Vol. 10, Issue 1, pp. 1–20). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s13287-019-1212-2>
- Nussbaum, S. R., Carter, M. J., Fife, C. E., DaVanzo, J., Haught, R., Nussgart, M., & Cartwright, D. (2018). An Economic Evaluation of the Impact, Cost, and Medicare Policy Implications of Chronic Nonhealing Wounds. *Value in Health*, 21(1), 27–32. <https://doi.org/10.1016/j.jval.2017.07.007>
- O. Elansary, H., Szopa, A., Kubica, P., Ekiert, H., A. Mattar, M., Al-Yafrasi, M. A., El-Ansary, D. O., Zin El-Abedin, T. K., & Yessoufou, K. (2019). Polyphenol Profile and Pharmaceutical Potential of *Quercus* spp. Bark Extracts. *Plants*, 8(11), 486. <https://doi.org/10.3390/plants8110486>
- Okuda, T. (2005). Systematics and health effects of chemically distinct tannins in medicinal plants. *Phytochemistry*, 66(17), 2012–2031. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2005.04.023>
- Padilla, S., Nurden, A. T., Prado, R., Nurden, P., & Anitua, E. (2021). Healing through the lens of immunothrombosis: Biology-inspired, evolution-tailored, and human-engineered biomimetic therapies. *Biomaterials*, 279, 121205. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2021.121205>
- Park, E. H., & Chun, M. J. (2001). Wound healing activity of *Opuntia*. *Fitoterapia*, 72, 165–167.

- Park, Y. J., Park, D. H., & Bae, J.-S. (2024). Anti-Inflammatory Effects of Lupeol as a Candidate for New Drug Development. *The American Journal of Chinese Medicine*, 52(06), 1759–1771. <https://doi.org/10.1142/S0192415X2450068X>
- Pierce, G. F., & Mustoe, T. A. (1995). PHARMACOLOGIC ENHANCEMENT OF WOUND HEALING. *Annual Review of Medicine*, 46(1), 467–481. <https://doi.org/10.1146/annurev.med.46.1.467>
- Porter, J. A., Young, K. E., & Beachy, P. A. (1996). Cholesterol Modification of Hedgehog Signaling Proteins in Animal Development. *Science*, 274(5285), 255–259. <https://doi.org/10.1126/science.274.5285.255>
- Qin, P., Zhou, P., Huang, Y., Long, B., Gao, R., Zhang, S., Zhu, B., Li, Y.-Q., & Li, Q. (2024). Upregulation of rate-limiting enzymes in cholesterol metabolism by PKC δ mediates endothelial apoptosis in diabetic wound healing. *Cell Death Discovery*, 10(1), 263. <https://doi.org/10.1038/s41420-024-02030-2>
- Qiu, X., & Hu, S. (2013). “Smart” Materials Based on Cellulose: A Review of the Preparations, Properties, and Applications. *Materials*, 6(3), 738–781. <https://doi.org/10.3390/ma6030738>
- Queen, D., Orsted, H., Sanada, H., & Sussman, G. (2004). A dressing history. *International Wound Journal*, 1(1), 59–77. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4801.2004.0009.x>
- Razia, S., Park, H., Shin, E., Shim, K.-S., Cho, E., Kang, M. C., & Kim, S. Y. (2022). Synergistic effect of Aloe vera flower and Aloe gel on cutaneous wound healing targeting MFAP4 and its associated signaling pathway: In-vitro study. *Journal of Ethnopharmacology*, 290, 115096. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115096>
- Ríos, J. L., & Recio, M. C. (2005). Medicinal plants and antimicrobial activity. In *Journal of Ethnopharmacology* (Vol. 100, pp. 80–84). <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.04.025>
- Rishton, G. M. (2008). Natural Products as a Robust Source of New Drugs and Drug Leads: Past Successes and Present Day Issues. *American Journal of Cardiology*, 101(10 SUPPL.), S43–S49. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2008.02.007>
- RIZZA, L., MUNAFO, S., & SERRAINO, A. (2010). *Compositions for the treatment of hemorrhoids and related diseases* (Patent US9028883B2).
- Rodrigues, M., Kosaric, N., Bonham, C. A., & Gurtner, G. C. (2019). Wound Healing: A Cellular Perspective. *Physiological Reviews*, 99(1), 665–706. <https://doi.org/10.1152/physrev.00067.2017>
- Romm, A. (2017). *Botanical medicine for women’s health e-book: botanical medicine for women’s health e-book*. Elsevier Health Sciences.
- Rotowa, O. J., Małek, S., Jasik, M., & Staszcz-Szlachta, K. (2025). Effect of innovative peat-free organic growing media and fertilizer on nutrient allocation in pedunculate oak (*Quercus robur* L.) and European beech (*Fagus sylvatica* L.) seedlings. *New Forests*, 56(1), 17. <https://doi.org/10.1007/s11056-024-10079-1>
- Saghazadeh, S., Rinaldi, C., Schot, M., Kashaf, S. S., Sharifi, F., Jalilian, E., Nuutila, K., Giatsidis, G., Mostafalu, P., Derakhshandeh, H., Yue, K., Swieszkowski, W., Memic, A., Tamayol, A., & Khademhosseini, A. (2018). Drug delivery systems and materials for wound healing applications. In *Advanced Drug Delivery Reviews* (Vol. 127, pp. 138–166). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2018.04.008>

- Salem, M. Z. M., Elansary, H. O., Elkelish, A. A., Zeidler, A., Ali, H. M., Hefny, M. E. L., & Yessoufou, K. (2016). In vitro bioactivity and antimicrobial activity of picea abies and Larix decidua wood and bark extracts. *BioResources*, *11*(4), 9421–9437. <https://doi.org/10.15376/biores.11.4.9421-9437>
- Sánchez-Burgos, J. A., Ramírez-Mares, M. V., Larrosa, M. M., Gallegos-Infante, J. A., González-Laredo, R. F., Medina-Torres, L., & Rocha-Guzmán, N. E. (2013). Antioxidant, antimicrobial, antitopoisomerase and gastroprotective effect of herbal infusions from four Quercus species. *Industrial Crops and Products*, *42*, 57–62. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.05.017>
- Saoudi, M., Jebahi, S., Jamoussi, K., Ben Salah, G., Kallel, C., & El Feki, A. (2011). Haematological and biochemical toxicity induced by methanol in rats: ameliorative effects of Opuntia vulgaris fruit extract. *Human & Experimental Toxicology*, *30*(12), 1963–1971. <https://doi.org/10.1177/0960327111403175>
- Šarić-Kundalić, B., Dobeš, C., Klatt-Asselmeyer, V., & Saukel, J. (2010). Ethnobotanical study on medicinal use of wild and cultivated plants in middle, south and west Bosnia and Herzegovina. *Journal of Ethnopharmacology*, *131*(1), 33–55. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.05.061>
- Sarri, M., Zahra Mouyet, F., Benziane, M., & Cheriet, A. (2014). Traditional use of medicinal plants in a city at steppic character (M'sila, Algeria). *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research*, *2*(2), 31–35. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=496050267002>
- Sarwar, R., Farooq, U., Khan, A., Naz, S., Khan, S., Khan, A., Rauf, A., Bahadar, H., & Uddin, R. (2015). Evaluation of Antioxidant, Free Radical Scavenging, and Antimicrobial Activity of Quercus incana Roxb. *Frontiers in Pharmacology*, *6*. <https://doi.org/10.3389/fphar.2015.00277>
- Sarwar, R., Farooq, U., Naz, S., Khan, A., Bukhari, S. M., Khan, H., Karim, N., Khan, I., Ahmed, A., & Al-Harrasi, A. (2018). Isolation and Characterization of Two New Secondary Metabolites From Quercus incana and Their Antidepressant- and Anxiolytic-Like Potential. *Frontiers in Pharmacology*, *9*. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00298>
- Sen, C. K., Gordillo, G. M., Roy, S., Kirsner, R., Lambert, L., Hunt, T. K., Gottrup, F., Gurtner, G. C., & Longaker, M. T. (2009). Human skin wounds: A major and snowballing threat to public health and the economy: PERSPECTIVE ARTICLE. *Wound Repair and Regeneration*, *17*(6), 763–771. <https://doi.org/10.1111/j.1524-475X.2009.00543.x>
- Sharma, A., Flores-Vallejo, R. D. C., Cardoso-Taketa, A., & Villarreal, M. L. (2017). Antibacterial activities of medicinal plants used in Mexican traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, *208*, 264–329. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.04.045>
- Shrivastava, L., Shrivastava, R., & Shrivastava, R. (2013). Composition for topical application comprising glycerol and tannins (Patent US10335364B2). In *Google Patents* (US10335364B2). <https://patents.google.com/patent/US9597298B2/en>
- Şöhretoğlu, D., & Renda, G. (2020). The polyphenolic profile of Oak (Quercus) species: a phytochemical and pharmacological overview. In *Phytochemistry Reviews* (Vol. 19, Issue 6, pp. 1379–1426). Springer Science and Business Media B.V. <https://doi.org/10.1007/s11101-020-09707-3>

- Sousa, A. F., Pinto, P. C. R. O., Silvestre, A. J. D., & Pascoal Neto, C. (2006). Triterpenic and Other Lipophilic Components from Industrial Cork Byproducts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(18), 6888–6893. <https://doi.org/10.1021/jf060987+>
- Stintzing, F. C., & Carle, R. (2005). Cactus stems (*Opuntia* spp.): A review on their chemistry, technology, and uses. In *Molecular Nutrition and Food Research* (Vol. 49, Issue 2, pp. 175–194). Mol Nutr Food Res. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200400071>
- Sun, B. K., Siprashvili, Z., & Khavari, P. A. (2014). Advances in skin grafting and treatment of cutaneous wounds. In *Science* (Vol. 346, Issue 6212, pp. 941–945). American Association for the Advancement of Science. <http://science.sciencemag.org/>
- Taib, M., Rezzak, Y., Bouyazza, L., & Lyoussi, B. (2020). Medicinal Uses, Phytochemistry, and Pharmacological Activities of *Quercus* Species. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2020(1). <https://doi.org/10.1155/2020/1920683>
- Tanase, C., Babotă, M., Nișca, A., Nicolescu, A., Ștefănescu, R., Mocan, A., Farczadi, L., Mare, A. D., Ciurea, C. N., & Man, A. (2023). Potential Use of *Quercus dalechampii* Ten. and *Q. frainetto* Ten. Barks Extracts as Antimicrobial, Enzyme Inhibitory, Antioxidant and Cytotoxic Agents. *Pharmaceutics*, 15(2). <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15020343>
- Tardío, J., Pascual, H., & Morales, R. (2005). Wild food plants traditionally used in the province of Madrid, Central Spain. *Economic Botany*, 59, 122–136. [https://doi.org/https://doi.org/10.1663/0013-0001\(2005\)059\[0122:WFPTUI\]2.0.CO;2](https://doi.org/https://doi.org/10.1663/0013-0001(2005)059[0122:WFPTUI]2.0.CO;2)
- Thomford, N., Senthebane, D., Rowe, A., Munro, D., Seele, P., Maroyi, A., & Dzobo, K. (2018). Natural Products for Drug Discovery in the 21st Century: Innovations for Novel Drug Discovery. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(6), 1578. <https://doi.org/10.3390/ijms19061578>
- Trombetta, D., Puglia, C., Perri, D., Licata, A., Pergolizzi, S., Lauriano, E. R., De Pasquale, A., Saija, A., & Bonina, F. P. (2006). Effect of polysaccharides from *Opuntia ficus-indica* (L.) cladodes on the healing of dermal wounds in the rat. *Phytomedicine*, 13(5), 352–358. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2005.06.006>
- Uniyal, B., & Shiva, V. (2005). *Traditional knowledge on medicinal plants among rural women of the Garhwal Himalaya, Uttaranchal*.
- Uyar, A., Jhangir, G. M., Keleş, Ö. F., & Yener, Z. (2023). The effects of *Quercus* (Oak) acorn on cutaneous wound healing in rats. *International Journal of Plant Based Pharmaceuticals*, 3(3), 148–155. <https://doi.org/10.29228/ijpbp.27>
- Valizadeh, M., Bangash, A. H., Hayati, D., Jafari, A., & Rajabi-Maham, H. (2021). *Assessing the Involvement of Platelet Degranulation in the Therapeutic Properties of Exosome Derived from Amniotic Epithelial Cells through Enrichment and Interaction Network Analysis*. <https://doi.org/10.1101/2021.01.07.425685>
- Velnar, T., Bailey, T., & Smrkolj, V. (2009). The Wound Healing Process: An Overview of the Cellular and Molecular Mechanisms. *Journal of International Medical Research*, 37(5), 1528–1542. <https://doi.org/10.1177/147323000903700531>

- Vílchez Cáceda, H. A., Inocente Camones, M. A., & Flores López, O. B. (2020). Actividad cicatrizante de seis extractos hidroalcohólicos de plantas en heridas incisas de *Rattus norvegicus albinus* Healing. *Revista Cubana de Medicina Militar*, *49*(1), 86–100.
- Visakorpi, K., Riutta, T., Malhi, Y., Salminen, J.-P., Salinas, N., & Gripenberg, S. (2020). Changes in oak (*Quercus robur*) photosynthesis after winter moth (*Operophtera brumata*) herbivory are not explained by changes in chemical or structural leaf traits. *PLOS ONE*, *15*(1), e0228157. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0228157>
- VitroBio Sarl. (2013). *COMPOSITION FOR TOPICAL APPLICATION COMPRISING GLYCEROL AND TANNINS* (Patent PCT/EP2013/061835).
- Vong, A. T., Chong, H. W., & Lim, V. (2018). Preliminary study of the potential extracts from selected plants to improve surface cleaning. *Plants*, *7*(1), 1–9. <https://doi.org/10.3390/plants7010017>
- Vowden, P., & Vowden, K. (2016). The economic impact of hard-to- heal wounds: promoting practice change to address passivity in wound management. *Wounds International*, *7*, 10–15.
- Wang, Y., Ren, J., Xia, K., Wang, S., Yin, T., Xie, D., & Li, L. (2012). Effect of mitomycin on normal dermal fibroblast and HaCat cell: an in vitro study. *Journal of Zhejiang University. Science. B*, *13*(12), 997–1005. <https://doi.org/10.1631/jzus.B1200055>
- Wang, Z., Zhao, F., Xu, C., Zhang, Q., Ren, H., Huang, X., He, C., Ma, J., & Wang, Z. (2024). Metabolic reprogramming in skin wound healing. *Burns & Trauma*, *12*. <https://doi.org/10.1093/burnst/tkad047>
- Wilhelm, G., Mertowska, P., Mertowski, S., Przysucha, A., Strużyna, J., Grywalska, E., & Torres, K. (2023). The Crossroads of the Coagulation System and the Immune System: Interactions and Connections. *International Journal of Molecular Sciences*, *24*(16), 12563. <https://doi.org/10.3390/ijms241612563>
- Wunnoo, S., Sermwittayawong, D., Praparatana, R., Voravuthikunchai, S. P., & Jakkawanpitak, C. (2024). *Quercus infectoria* Gall Ethanolic Extract Accelerates Wound Healing through Attenuating Inflammation and Oxidative Injuries in Skin Fibroblasts. *Antioxidants*, *13*(9), 1094. <https://doi.org/10.3390/antiox13091094>
- Xing, N., Dong, Z., Wu, Q., Kan, P., Han, Y., Cheng, X., & Zhang, B. (2022). Identification and validation of key molecules associated with humoral immune modulation in Parkinson's disease based on bioinformatics. *Frontiers in Immunology*, *13*. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.948615>
- Yahata, Y., Shirakata, Y., Tokumaru, S., Yang, L., Dai, X., Tohyama, M., Tsuda, T., Sayama, K., Iwai, M., Horiuchi, M., & Hashimoto, K. (2006). A novel function of angiotensin II in skin wound healing: Induction of fibroblast and keratinocyte migration by angiotensin II via heparin-binding epidermal growth factor (EGF)-like growth factor-mediated EGF receptor transactivation. *Journal of Biological Chemistry*, *281*(19), 13209–13216. <https://doi.org/10.1074/jbc.M509771200>
- Yang, J., Zhou, Y., Liu, H., Wang, J., & Hu, J. (2015). MCI extraction from Turkish galls played protective roles against X-ray-induced damage in AHH-1 cells. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, *8*(7), 8122–8128.
- Yeung, A. W. K., Heinrich, M., & Atanasov, A. G. (2018). Ethnopharmacology—A Bibliometric Analysis of a Field of Research Meandering Between Medicine and Food Science? *Frontiers in Pharmacology*, *9*(MAR), 215. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00215>

- Yoshioka, H., Coates, H. W., Chua, N. K., Hashimoto, Y., Brown, A. J., & Ohgane, K. (2020). A key mammalian cholesterol synthesis enzyme, squalene monooxygenase, is allosterically stabilized by its substrate. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(13), 7150–7158. <https://doi.org/10.1073/pnas.1915923117>
- Zamani, M., Kelishadi, M. R., Ashtary-Larky, D., Amirani, N., Goudarzi, K., Torki, I. A., Bagheri, R., Ghanavati, M., & Asbaghi, O. (2023). The effects of green tea supplementation on cardiovascular risk factors: A systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Nutrition*, 9. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1084455>
- Zangeneh, M. M., Pooyanmehr, M., & Zangeneh, A. (2019). Biochemical, histopathological, and pharmacological evaluations of cutaneous wound healing properties of *Quercus brantii* ethanolic extract ointment in male rats. *Comparative Clinical Pathology*, 28(5), 1483–1493. <https://doi.org/10.1007/s00580-019-02997-w>
- Zehra, B., Ahmed, A., Sarwar, R., Khan, A., Farooq, U., Abid Ali, S., & Al-Harrasi, A. (2019). Apoptotic and antimetastatic activities of betulin isolated from *Quercus incana* against non-small cell lung cancer cells. *Cancer Management and Research*, Volume 11, 1667–1683. <https://doi.org/10.2147/CMAR.S186956>
- Zhang, L., Yin, H., Lei, X., Lau, J. N. Y., Yuan, M., Wang, X., Zhang, F., Zhou, F., Qi, S., Shu, B., & Wu, J. (2019). A Systematic Review and Meta-Analysis of Clinical Effectiveness and Safety of Hydrogel Dressings in the Management of Skin Wounds. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00342>
- Zhang, M., Xie, Z., Gao, W., Pu, L., Wei, J., & Guo, C. (2016). Quercetin regulates hepatic cholesterol metabolism by promoting cholesterol-to-bile acid conversion and cholesterol efflux in rats. *Nutrition Research*, 36(3), 271–279. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2015.11.019>
- Zhu, J. (2010). Bioactive modification of poly(ethylene glycol) hydrogels for tissue engineering. In *Biomaterials* (Vol. 31, Issue 17, pp. 4639–4656). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.02.044>
- Zibanejad, S., Miraj, S., & Rafieian Kopaei, M. (2020). Healing effect of *Quercus persica* and *Lawsonia inermis* ointment on episiotomy wounds in primiparous women. *Journal of Research in Medical Sciences*, 25(1), 11. https://doi.org/10.4103/jrms.JRMS_251_18