

**UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA**



**FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA**

**TITULO:**

**ELABORACIÓN DE UNA CREMA CON EL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE *Theobroma cacao* L. (cacao) PARA EVALUAR SU ACTIVIDAD CICATRIZANTE EN RATAS ALBINAS (Holtzman)**

**Tesis para optar al Título Profesional de Químico Farmacéutico y Bioquímico**

**BACH: JULIO CESAR CAPUÑAY PESFIL**

**BACH. SONIA VIRGINIA QUISOCALA LIMACHI**

**ASESOR: Mg. Q.F. OSCAR FLORES LOPEZ**

**LIMA – PERÚ**

**2019**

Elaboración de una crema con el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao L.* (*Cacao*) para evaluar su actividad cicatrizante en ratas Albinas (Holtzman).

## Dedicatoria

A Dios quién supo guiarme por el buen camino, darme fuerzas para seguir adelante y no desmayar en los problemas que se presentaban, enseñándome a encarar las adversidades sin perder nunca la dignidad ni desfallecer en el intento.

A mis padres y hermanos, por su amor incondicional, por brindarme su apoyo, consejos, confianza y seguridad en el transcurso de mi carrera universitaria.

***Sonia y Julio***

## Agradecimiento

A Dios:

Por darme la vida y la oportunidad de lograr una meta más, por su protección e infinito amor, por darme la sabiduría y el valor para seguir adelante.

A mis Padres y hermanos:

Por su paciencia y amor incondicional, por brindarme su apoyo y sus consejos en todo momento. Gracias infinitamente por depositar su confianza en mí.

A mis docentes:

Que día a día se esforzaron para brindarme la mejor enseñanza. Gracias por su paciencia y comprensión, por educarme con ética, eficiencia y responsabilidad para un buen desenvolvimiento en el campo laboral.

***Sonia y Julio***

## RESUMEN

El objetivo del estudio fue evaluar si la crema elaborada con el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao L. (Cacao)* influye en el efecto cicatrizante en heridas inducidas en ratas albinas (Holzman). Se usó el método de maceración, obteniendo los Metabolitos secundarios de color oscuro, el cual se concentró a sequedad obteniéndose una pasta endurecida de color marrón oscuro que se almacenó en frascos color ámbar para la posterior elaboración de la crema del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao L. (Cacao)*. Para la realización del Marcha fitoquímica se procedió a raspar la pasta endurecida obteniendo fragmentos del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao L. (Cacao)* y su reconocimiento Químico trabajados con distintos solventes respectivamente, la presente Investigación de trabajo con los siguientes grupos **Grupo 1:** 5 ratas con peso de 230 a 250 gramos será nuestro grupo control como blanco sin inducción de heridas y sin tratamiento. **Grupo 2:** 5 ratas con peso de 230 a 250 gramos será nuestro grupo solo corte en el lomo. Sin ningún tratamiento. **Grupo 3:** ratas con peso de 230 a 250 gramos será nuestro grupo solo corte en el lomo. Con tratamiento de sulfacrem **Grupo 4:** 5 ratas con peso de 230 a 250 gramos será grupo con 10% de la crema del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao L. (Cacao)* **Grupo 5:** 5 ratas con peso de 230 a 250 gramos será nuestro grupo al 20% de la crema del del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao L. (Cacao)* **Grupo 6:** 5 ratas con peso de 230 a 250 gramos será nuestro grupo al 30% de la crema del del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao L. (Cacao)*.

Se administró la crema elaborada con el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao L. (Cacao)* por vía tópica dos veces al día por un lapso de tiempo de 15 días; se midió con un vernier el ancho y la longitud de las heridas de los ratas albinas (Holtzman). Las formulaciones óptimas resultantes fueron las Grupo 5 y Grupo 6, en las cuales se presentó 90% de cicatrización en las heridas inducidas. Se concluyó por vía tópica dos veces al día por un lapso de 15 días; se midió con un vernier el ancho y la longitud de las heridas si posee actividad cicatrizante en heridas inducidas debido a los metabolitos secundarios que posee la crema del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao L. (Cacao)*.

Siendo los taninos y flavonoides responsables de la actividad cicatrizante.

**Palabras clave:** Cicatrizante, flavonoides. Ratas albinas.

## ABSTRACT

The objective of the study was to evaluate whether the Theobroma Cacao I hydroalcoholic extract cream. (Cocoa) influences the healing effect on wounds induced in albino rats (Holzman). The maceration method was used, obtaining the secondary Metabolites of dark color, which was concentrated to dryness obtaining a hardened paste of dark brown color that was stored in amber jars for the subsequent elaboration Cream of the hydroalcoholic extract of the Theobroma Cacao leaves I. (Cocoa) To carry out the Phytochemical March, the hardened paste was scraped to obtain fragments of the hydroalcoholic extract from the Theobroma Cacao I leaves. (Cocoa) and its chemical recognition worked with different solvents respectively, the present Research work with the following groups Group 1: 5 rats weighing 230 to 250 grams will be our control group as a target without induction of wounds and without treatment. Group 2: 5 rats weighing 230 to 250 grams will be our group only cut on the back. Without any treatment. Group 3: rats weighing 230 to 250 grams will be our group only cut on the back. With sulfacrem treatment Group 4: 5 rats weighing 230 to 250 grams will be a group with 10% of the cream of the hydroalcoholic extract of Theobroma Cacao I leaves. (Cocoa) Group 5: 5 rats weighing 230 to 250 grams will be our group at 20% of the cream of the hydroalcoholic extract of Theobroma Cacao I leaves. (Cocoa) Group 6: 5 rats weighing 230 to 250 grams will be our group at 30% of the cream of the hydroalcoholic extract of the Theobroma Cacao I leaves. (Cocoa).

Administer the hydroalcoholic extract cream of Theobroma Cacao leaves I. (Cocoa) topically twice a day for a period of 15 days; the width and length of the wounds of albino rats (Holtzman) was measured with a vernier. The resulting optimal formulations were Group 5 and Group 6, in which 90% healing was induced in induced wounds. It was concluded topically twice a day for a period of 15 days; the width and length of the wounds were measured with a vernier if it has healing activity in induced wounds due to secondary metabolites that the hydroalcoholic extract cream of Theobroma Cacao I leaves possesses. (Cocoa).

Being the tannins and flavonoids responsible for the healing activity.

Keywords: Healing, healing, flavonoids.

## INDICE

### CAPÍTULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

- 1.1. Descripción de la realidad problemática
- 1.2. Formulación del Problema
  - 1.2.1 Problema General
  - 1.2.2 Problema Específicos
- 1.3. Objetivos
  - 1.3.1. Objetivo general
  - 1.3.2. Objetivos específicos.
- 1.4. Justificación e importancia del estudio

### CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

- 2.1 Antecedentes del Estudio
  - 2.2.1 Nacionales
  - 2.2.2 Internacionales
- 2.2 Bases Teóricas
- 2.3 Hipótesis
  - 2.3.1 Hipótesis general
  - 2.3.2 Hipótesis específicas
- 2.4 Variables
  - 2.4.1 Tabla de Operacionalización de Variables
- 2.5 Marco conceptual

### CAPÍTULO III: MÉTODO

- 3.1 Tipo de estudio
- 3.2 Diseño a utilizar
- 3.3 Población
- 3.4 Muestra
- 3.5 Técnicas e instrumentos de recolección de datos
- 3.6 Procesamiento de Datos

### CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

- 4.1 Presentación de resultados
- 4.2 Contrastación de hipótesis
- 4.3 Discusión de resultados

### CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- 5.1 Conclusiones.
- 5.2 Recomendaciones.

REFERENCIAS

ANEXOS

## INTRODUCCION

*Theobroma cacao L. (Cacao)*, conocido por sus propiedades reductoras de la fiebre y empleado extensamente en la zona tropical. La planta se desarrolla en terreno cálidos como en las colinas de grava de zona oriental, a lo largo del río Amazonas y Ucayali o bien en las zonas de Brasil. Es un árbol, al tiempo que su fruto es verde y muy apreciada en la elaboración de chocolates y en la medicina tradicional por su alto contenido de minerales y vitaminas, como también por el contenido de metabolitos secundarios en su composición.

La piel es el órgano más extenso en el organismo humano. Puede verse afectado por enfermedades que afectan a éste órgano, por diferentes accidentes de la vida cotidiana y ciertos padecimientos. En esta investigación veremos como el extracto hidroalcohólico hojas de *Theobroma cacao L. (Cacao)* puede coadyuvar en el proceso de la cicatrización, en la primera parte mencionaremos la formulación del problema seguido de los problemas y objetivos generales, indicando la justificación que nos llevó a realizar esta investigación.

En la segunda parte revisamos los antecedentes nacionales e internacionales usados para el desarrollo del trabajo que nos servirán posteriormente para comparar nuestros resultados.

En la tercera parte mencionamos la metodología usada para la parte experimental discutiremos los resultados y estadísticamente demostraremos la actividad cicatrizante de crema elaborada con el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao L. (Cacao)*, en la cuarta sección mencionamos las conclusiones y recomendaciones obtenidas en este trabajo haciendo un hincapié de la importancia y revalorando el consumo de este vegetal *Theobroma cacao L. (Cacao)*.

# CAPÍTULO I

## PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

### 1.1 DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA

El Perú posee una variedad de plantas medicinales por el cual es importante evaluar sus efectos terapéuticos y farmacológicos, en la costa, sierra y selva existen vegetales que contienen sustancias de valor medicinal importantes para la salud humana, aún por descubrir, variedades de plantas por analizar con posibles efectos farmacológicos que son de gran importancia para nuestra sociedad.

Un tejido lesionado es rápidamente colonizado por acción de bacterias, y estas bacterias sin control incrementan y se distribuyen por nuevos tejidos afectando órganos y otras partes del cuerpo humano, si no es atendida la infección bacteriana puede llegar a provocar destrucción celular incluso llegando a provocar la muerte por una infección generalizada o sepsis.

Los antibióticos son fármacos que al ser administrados a diferentes concentraciones se encargan de impedir el crecimiento bacteriano mediante dos mecanismos ya sea como bactericida o como bacteriostático. Sin embargo, el uso indiscriminado de antibióticos genera resistencia bacteriana, problemas relacionados con los medicamentos, esto es un problema que nos induce a buscar alternativas y obtener un producto natural para tratar dichas patologías.

*Theobroma cacao L. (Cacao)* es la especie vegetal en investigación, será utilizado de forma tradicional para numerosos padecimientos, en esta búsqueda por resaltar sus beneficios encontramos que existe posibilidades de emplearla como antibacteriano, no para competir con el mercado farmacéutico, sino para ser una alternativa de tratamiento en las poblaciones más necesitadas y apartadas de los servicios básicos de salud.

## 1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

### 1.1.1 Problema General

¿La crema elaborada con el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao L. (Cacao)* presentará actividad cicatrizante en ratas albinas (hotzman)?

### 1.2.2 Problema Específicos

- ¿Qué concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao L. (cacao)* incorporadas en una crema permitirá obtener la concentración de la cicatrización?
- ¿Cuál será la concentración específica de la crema que contiene el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao L. (cacao)* que presentará actividad cicatrizante en ratas albinas (Hotlzman)?
- ¿Cuál será la actividad de cicatrización por inducción experimental frente a la crema que contiene el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao L. (caco)* en comparación con el fármaco Sulfacrem?

## 1.2 Objetivos

### 1.2.1 Objetivos general

Elaborar una crema que contiene extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao L. (cacao)* y evaluar su actividad cicatrizante en ratas albinas (Hotzman).

### 1.2.2 Objetivos específicos

- Determinar como la concentración de las hojas de *Theobroma cacao L. (cacao)* que influye en la cicatrización por inducción en ratas albinas (Hotzman)
- Obtener la concentración que contiene el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao L. (cacao)* en cicatrización por inducción experimental en ratas albinas (Hotzman)
- Evaluar la actividad cicatrizante de la crema elaborada con el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao L. (cacao)* en comparación con el fármaco Sulfacrem

## 1.3 JUSTIFICACION E IMPORTANCIA DEL ESTUDIO

Los problemas de salud que generan mayor preocupación en el área de la salud, específicamente farmacéutica en la actualidad, entre otros son la resistencia bacteriana, el acceso de medicamentos en el nuevo contexto mundial, la necesidad de contar con datos razonables del uso de medicamentos por la comunidad, y vigilancia efectiva de sus efectos, por

los que organismos internacionales y nacionales que piensan y actúan en bien de la salud pública recomiendan se desarrollen toda clase de actividades tendentes a frenar o disminuir la resistencia antimicrobiana, informar de manera fidedigna y estimular a la investigación de uso de medicamentos a fin de preservar las bondades de los recursos terapéuticos existentes a la fecha.

El fenómeno de la resistencia bacteriana no está sacado del error de creer que las enfermedades infecciosas ya estaban derrotadas.

En los países desarrollados la multiresistencia ya está afectando de un modo notable a sus instalaciones hospitalarias. Se ha conocido recientemente que solo en los Estados Unidos anualmente se producen más de 600.000 fallecimientos ocasionados por infecciones adquiridas en las hospitalizaciones, con unos costos evaluados cerca de 50.000 millones de dólares. Es tremendamente importante el hecho de que las infecciones hospitalarias adquiridas hasta un 90% de los aislados bacterianos presentan resistencia a los antibióticos convencionales. Respecto a los países menos desarrollados debido a esa multiresistencia, muchas enfermedades clásicas han rebrotado de nuevo. Ello explica que el año pasado muriesen en el mundo unos tres millones de personas víctimas con infecciones pulmonares, es decir un mayor número que ningún año anterior, incluyendo el periodo conocido como de “tuberculosis epidémica” en la transición entre el pasado siglo y el actual.

La lucha clásica, y única conocida hasta recientemente, contra la multiresistencia, ha consistido en buscar nuevos y más potentes antibióticos en una carrera de velocidad paralela entre la aparición de nuevas formas resistentes de bacterias y la comercialización de nuevos antibióticos, carrera en la que es difícil vaticinar la existencia de un claro vencedor. Pero hace poco han comenzado a abrirse nuevas esperanzas.

Por estos problemas que existen hoy en día, es importante evaluar el efecto de las hojas de *Theobroma cacao* L. como cicatrizante, y de esta manera saber que proporciona una terapia eficaz, segura, accesible, de fácil y rápida administración.

## CAPÍTULO II

### MARCO TEORICO

#### 2.1 Antecedentes del Estudio

##### 2.1.1 Nacionales

**Gaviria N. et al (2014)** “Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro del extracto acuoso liofilizado de hojas de *Smallanthus sonchifolius* “Yacón” sobre *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* y *Staphylococcus aureus*. IMET–EsSALUD-2014” *Smallanthus sonchifolius* “Yacón” se ha postulado que sus raíces y sus hojas tienen efecto sobre la salud humana ya que posee valiosas propiedades dietéticas y medicinales. La presente investigación, tuvo como objetivo evaluar la actividad antibacteriana in vitro del extracto acuoso liofilizado de hojas de *Smallanthus sonchifolius* “Yacón” sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Las hojas fueron recolectadas en el departamento de Pasco y almacenadas en el Área de Desecado del IMET - EsSALUD. Se evaluó la actividad antibacteriana utilizando el método de Kirby Bauer, prueba que permite medir la susceptibilidad in vitro de los microorganismos patógenos en función al tamaño del halo de inhibición, se realizó discos impregnados del extracto acuoso liofilizado a concentraciones de 100 mg/mL hasta 900 mg/mL, control positivo Gentamicina 10 µg y control negativo agua destilada. La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) se determinó por el método de macrodilución, que es la concentración más baja de la sustancia que puede inhibir el crecimiento visible de un microorganismo. Los resultados demostraron que el extracto acuoso liofilizado de hojas de *Smallanthus sonchifolius* “Yacón” a la más alta concentración de 900 mg/mL presentó sobre *Staphylococcus aureus* el mayor porcentaje de inhibición de 96.67%, respecto a la inhibición producida por el control positivo, sobre *Escherichia coli* el mayor porcentaje de inhibición fue 75% y sobre *Enterococcus faecalis* el mayor porcentaje de inhibición fue 64.52%. La CMI fue de 10.67

mg/ml frente a *Escherichia coli*, también de 10.67 mg/ml frente a *Enterococcus faecalis* y 4 mg/ml frente a *Staphylococcus aureus*.

**Castro Y. (2016)** “Eficacia antibacteriana de los aceites esenciales de *Mentha piperita* “menta” Y *Rosmarinus officinalis* “romero”, sobre *Staphylococcus aureus*, estudio in vitro”. El objetivo principal de la presente investigación fue Evaluar la eficacia antimicrobiana de los aceites esenciales de *Mentha piperita* “menta” y *Rosmarinus officinalis* “romero”, sobre las cepas de *Staphylococcus aureus*, estudio in vitro. El método aplicado fue por conveniencia con una muestra de 30 placas por cada planta. En el procedimiento se cultivó la cepa en el medio de Mueller Hinton. Mediante el método de Kirby y Bauer, se preparó los discos con los aceites esenciales de *Rosmarinus officinalis* y *Mentha piperita*, los aceites de dichas plantas fueron obtenidos por arrastre por vapor de agua. Al llevar a cabo el estudio microbiológico, se usó el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* a concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100%; *Mentha piperita* al 25%, 50% ,75% y 100%. Estos aceites esenciales fueron comparados con la Amoxicilina de 250mg. Al ejecutar el estudio in vitro se lograron los subsiguientes resultados: Los halos inhibitorios de la amoxicilina de 250mg fue de  $26,100 \pm 1,4227$ mm en comparación con el aceite de romero que fue al 25 %  $6.757 \pm ,4281$ mm; al 50%  $7,417 \pm ,5427$  mm, al 75% de  $8,067 \pm ,7397$ mm y al 100% de  $7,400 \pm ,6074$ mm frente al *Staphylococcus aureus*. Con el aceite esencial de *Mentha* al 25 % tuvo un promedio de halos de inhibición de  $2,600 \pm 2,8479$  mm; al 50%  $1,783 \pm 2,5854$ mm, al 75% de  $3,000 \pm 3,0822$ mm y al 100%  $5,567 \pm 2,0583$  mm en comparación con amoxicilina de 250 µg fue  $25,667 \pm 1,7876$ mm frente a las cepas de *Staphylococcus aureus*. Concluyendo finalmente que de los dos aceites esenciales ninguno presento eficacia antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* así mismo la amoxicilina de 250mg tampoco mostro ser eficaz contra las cepas de *Staphylococcus aureus*, sin embargo comparando los halos inhibitorios de ambos aceites esenciales con la amoxicilina de 250mg, esta obtuvo halos inhibitorios más amplios

**Mamani L. (2017)** “Actividad antibacteriana de los extractos alcohólicos de *Senecio spp* (Chachacoma) en el crecimiento de *Escherichia coli*, *Klebsiella sp*, *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus sp*”. Los objetivos fueron: aislar bacterias *Escherichia coli*, *Klebsiella sp* y *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus sp* a partir de muestras de pacientes con infección urinaria del Centro de Salud Metropolitano de Puno, y evaluar el efecto de los extractos alcohólicos de hojas y tallos de *Senecio spp* (chachacoma) en el crecimiento in vitro de bacterias aisladas a partir de muestras de pacientes con infección urinaria. El aislamiento bacteriano se realizó mediante la técnica de cultivo in vitro en agar EMB y Manitol Salado, la evaluación antimicrobiana de los extractos de hojas y tallos de *Senecio sp* se prepararon en concentraciones de 20, 40, 60, 80 y 100%, se realizó mediante el método de Kirby Bauer o de difusión en agar con discos de sensibilidad, determinándose los diámetros de halos de inhibición, donde los datos fueron analizados mediante pruebas de análisis de varianza y de Tukey. Entre los resultados se aislaron las bacterias *Escherichia coli*, *Klebsiella sp* y *Staphylococcus aureus*, mientras tanto no se logró aislar *Enterococcus sp*. Los extractos alcohólicos de hojas y tallos de *Senecio spp* (chachacoma) presentaron efecto inhibitorio solo en bacterias *Staphylococcus aureus*, siendo mayor el efecto del extracto de hojas ( $p < 0.05$ ) mientras tanto *Escherichia coli* y *Klebsiella sp* resultaron resistentes. Los extractos alcohólicos de hojas y tallos de *Senecio sp*, inhibieron entre el 39.71 y 46.89% respectivamente.

**Barbarán C. (2014).** “Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro de extractos vegetales de las especies de *Tabernaemontana* frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*, de la región Loreto, Perú” El objetivo fue Investigar y evaluar la actividad antibacteriana in vitro de extractos vegetales de las especies de *Tabernaemontana* frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*. Se obtuvieron extractos etanólicos de hojas, corteza y raíz de 4 especies del genero *Tabernaemontana* (*T. macrocalyx*, *T. heterophylla*, *T. maxima* y *T. markgrafiana*), determinándose que las hojas de *T. maxima* y *T.*

*markgrafiana* mostraron mayor rendimiento en la producción del extracto (20.6 y 20.4 %, respectivamente). El screening fitoquímico de los 12 extractos etanólicos mostró que los alcaloides estuvieron presentes en mayor concentración; sin embargo, en algunos extractos también se registró la presencia de otros metabolitos con posible actividad antimicrobiana como es el caso de aminas y aminoácidos, flavonas, triterpenos, etc. Al determinar la actividad antibacteriana in vitro de los extractos frente a cinco cepas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*, por el método de difusión en agar (Técnica Kirby - Bauer), se observó que *T. maxima* y *T. markgrafiana* mostraron actividad frente a *S. aureus* y *P. aeruginosa*. Las hojas de *T. heterophylla* no mostró actividad frente a *S. aureus* y *P. aeruginosa*.

### 2.1.2 Internacionales

**Cuellar E. et al (2011).** En su Investigación fue Evaluar la actividad antibacteriana de diferentes fracciones de la cáscara de cacao (*Theobroma cacao* L.). Materiales y métodos. Se evaluó la actividad antibacteriana mediante el método de difusión en agar de diferentes fracciones de la cáscara de cacao, empleando cepas autóctonas y de referencia ATCC. Posteriormente, se hizo un análisis de estas fracciones por cromatografía líquida de alta eficiencia y cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. Resultados. La fracción clorofórmica presentó actividad antibacteriana frente a *Bacillus cereus* ATCC 11778 y *Streptococcus agalactiae* (autóctona), con porcentajes de inhibición de 34.90% (100 µg/µl) y 52.40% (100 µg/µl) respectivamente. También se evidenció una concentración mínima inhibitoria de 512 µg/ml frente a *Bacillus cereus* ATCC 11778 y de 128 µg/ml frente a *Streptococcus agalactiae*. Conclusiones. Este trabajo es el primer reporte a saber en Colombia sobre actividad antibacteriana *in vitro* de la cáscara de cacao, el cual resulta ser un avance importante para esta agroindustria. Esta

investigación abre paso a otros estudios relacionados para establecer el espectro de inhibición frente a otros microorganismos.

**PAREDES *et al* (2004)**, realizó un experimento en República Dominicana, evaluando sustratos en el enraizamiento de estacas de cacao. Las estacas se obtuvieron de ramas terminales jóvenes, con 4 a 5 hojas, tomadas en horas de la mañana (6:00a.m). A cada ramilla se les cortaron las hojas a la mitad y se dio un corte de bisel a la base. Se introdujeron en una solución de benomil al 1%. En el corte basal se aplicó ácido alfa-naftalenacético en polvo al 0.4%. Las bolsas se colocaron en una estructura de bambú en forma de caballete, de 50 cm de altura en el centro y 25 cm en ambos lados. Se cubrieron con plástico transparente para formar una cámara húmeda. Los caballetes se colocaron en el vivero con un sarán al 75% de sombra. Se aplicó riego a los 15 y 35 días. A los 63 días se retiró la cobertura plástica, dejando las plántulas bajo el sarán para aclimatarlas. Los sustratos en los cuales se logro mayor enraizamiento y prendimiento de las estacas, fueron suelo+aserrín (1:1); suelo; aserrín, con 36.7%, 26.4%, 17.6% de enraizamiento respectivamente. El suelo utilizado fue de textura franco arcilloso arenoso. En un experimento efectuado por LAMA (2006), se evaluó el efecto del

AIB y el humus de lombriz en el enraizado de estacas de dos clones de cacao Tingo María, encontrando como mejor sustrato arena+tierra (1:1); así mismo el clon ICS-95 supero al clon CCN-51 en mayor porcentaje de estacas enraizadas (55.56% y 33.3% respectivamente), bajo la aplicación de AIB a 3000 mg.Kg-1.

## 2.2 Bases teóricas

### 2.2.1 Características de la planta de *Theobroma cacao L.* (Cacao)

Características Físicas	Porcentaje
Humedad	7.00%
Fermentación	80%
% de Grano Blanco	45 – 55% - Blanco
Moho	1.50%
Grano Pizarroso	2.50%

#### Beneficios del cacao

- Grandes propiedades nutrimentales
- Alto en antioxidantes
- Alivia el estrés
- Disminuye los niveles de colesterol
- Alivia el mal humor
- Funciona como diurético
- En la industria cosmética ayuda a la hidratación del cuerpo

### ***Taxonomía de Theobroma cacao L.***

Nombre Científico:	<i>Theobroma Cacao</i>
Reino	: <i>Plantae</i>
Subreino	: <i>Tracheobionta</i>
División	: <i>Magnoliophyta</i>
Clase	: <i>Magnoliopsida</i>
Subclase	: <i>Dilleniidae</i>
Orden	: <i>Malvales</i>
Familia	: <i>Malvaceae</i>
Tribu	: <i>Theobromeae</i>
Género	: <i>Theobroma</i>
Especie	: <i>Theobroma Cacao L.</i>

**Imagen de *Theobroma cacao L.* Plantaciones en Moyobamba Perú**



**Fuente: El investigador.**

### 2.2.2 Ubicación Geográfica de cultivo de *Theobroma cacao* L.

Pequeña planta tropical que se cultiva por sus semillas en forma de almendra, las cuales se utilizan para elaborar el chocolate. También llamado *árbol del cacao* o *cacaotero*. Pertenece a la familia de las malváceas. La especie es originaria del bosque tropical de la cuenca del Amazonas, y se reconocen dos zonas de distribución en la era precolombina. Se cultivó por primera vez en Centroamérica y el norte de Suramérica, y las variedades que allí se encontraron se conocen como criollas.

La ciudad de Moyobamba está situada en la parte norte del departamento de San Martín, entre los meridianos 76°43' y 77°38' de longitud Oeste del meridiano de Greenwich y entre los paralelos 5°09' y 06°01' de latitud Sur.

La provincia limita con el norte con la provincia de Alto Amazonas en el departamento de Loreto; por el sur con la provincia de Lamas; suroeste con la provincia de Rodríguez de Mendoza en el departamento de Amazonas; por el este con la provincia de Alto Amazonas en el departamento de Loreto y por el Oeste con la provincia de Rioja; Nor Oeste con la provincia de Bongará del departamento de Amazonas.

### 2.2.3 Características del Cacao

Es un árbol que puede alcanzar una altura de 6 a 8 m, posee un sistema radicular principalmente pivotante el cual busca las capas inferiores del suelo hacia los mantos freáticos, posee a la vez raíces primarias y secundarias que crecen horizontalmente.

**Tallo.** Las plantas de cacao, reproducidas por semillas, desarrollan un tallo principal de crecimiento vertical que puede alcanzar 1 a 2 metros de altura a la edad de 12 a 18 meses. A partir de ese momento la yema apical detiene su crecimiento y del mismo nivel emergen de 3 a 5 ramas laterales. A este conjunto de ramas se le llama comúnmente verticilo u horqueta.

**Hojas.** Las hojas adultas son de color verde, de lámina simple, entera de forma que va desde lanceoladas o casi ovaladas, con una nervadura pinnada y ambas superficies glabras. Las hojas cuando jóvenes son muy delicadas por lo que son apetecidas por los insectos y dañadas por el viento poseen un color verde pálido y al alcanzar su madurez hacen el cambio de color.

**Flor.** La flor del cacao es hermafrodita es decir cuenta con ambos sexos, su polinización es estrictamente entomófila, para lo cual la flor inicia su proceso de apertura con el agrietamiento del botón floral en horas de la tarde. El día siguiente en horas de la mañana la flor ya está abierta en su totalidad.

**Fruto.** El fruto es conocido botánicamente como una drupa; pero generalmente se le conoce como mazorca. El tamaño y la forma dependen en gran medida de las características genéticas de la planta, el medio ambiente así como el manejo de la plantación.

**Variedades.** Actualmente en el mundo existe una gran cantidad de variedades, la riqueza genética con la que se cuenta es muy amplia; aunque originalmente solo existían dos tipos: el criollo y el forastero, el cruce de estos dos especies a dado origen al trinitario.

#### **2.2.4 Condiciones para el Cultivo de Cacao**

Los factores climáticos críticos para el desarrollo del cacao son la temperatura y la lluvia. A estos se le unen el viento y la luz o radiación solar. El cacao es una planta que se desarrolla bajo sombra. La humedad relativa también es importante ya que puede contribuir a la propagación de algunas enfermedades del fruto. Estas exigencias climáticas han hecho que el cultivo de cacao se concentre en las tierras bajas tropicales.

### 2.2.5 Componentes Físico Químicos de *Theobroma cacao* L.

- **Granos de cacao:** Los granos de cacao son las semillas del árbol *Theobroma cacao*. Cada semilla consta de dos cotiledones y del pequeño embrión de la planta, todos cubiertos por la piel (cáscara). Los cotiledones almacenan el alimento para el desarrollo de la planta y dan lugar a las dos primeras hojas de la misma cuando la semilla germina. El almacén de alimentos consta de grasa, conocida como manteca de cacao, que conforma casi la mitad del peso seco de la semilla. La cantidad de grasa y sus propiedades, tales como su punto de fusión y dureza, dependen de la variedad de cacao y de las condiciones ambientales. Las semillas son fermentadas, lo que causa diversos cambios químicos tanto en la pulpa que las rodea como dentro de ellas mismas. Estos cambios producen el desarrollo del sabor a chocolate así como el cambio de color de las semillas.
- **Masa de cacao:** La masa de cacao es producida a través de la molienda de los granos de cacao sin cáscara.
- **Manteca de cacao:** La grasa o manteca de cacao puede ser extraída del grano de diversas formas.
- **Polvo de cacao:** El polvo de cacao es formado a partir de la masa de cacao. Cierta tipo de prensas son utilizadas para remover parte del contenido graso y obtener finalmente un material sólido denominado pasta de cacao prensada. Este producto es posteriormente triturado para dar lugar al polvo de cacao. El proceso puede ser alterado para producir polvos de cacao de diversas composiciones y con diferentes niveles de grasa.

## Comparación de la composición en macro y micronutrientes de cacao y derivados

Contenidos por 100 gramos	Cacao en polvo desgrasado (materia prima)	Chocolate	Chocolate con leche	Chocolate blanco	Soluble de cacao
Energía (kcal)	255	449-534	511-542	529	330-375
Proteínas (g)	23	4,2-7,8	6,1-9,2	8	4-7
Hidratos de carbono (g)	16	47-65	54,1-60	58,3	78-82
Almidón	13	3,1	1,1	-	2-8
Azúcares (g)	3	50,1-60	54,1-56,9	58,3	70-78
Fibra (g)	23	5,9-9	1,8	-	7
Grasas (g)	11	29-30,6	30-31,8	30,9	2,5-3,5
Grasa saturada (g)	6,5	15,1-18,2	17,6-19,9	18,2	1,5-2,1
G. monoinsaturada (g)	3,6	8,1-10	9,6-10,7	9,9	0,8-1,1
G. Poliinsaturada (g)	0,3	0,7-1,2	1,0-1,2	1,1	0,1
Sodio (g)	0,2	0,02-0,08	0,06-1,12	0,11	0,07-0,13
Potasio (g)	2	0,4	0,34-0,47	0,35	0,44-0,9
Calcio (mg)	150	35-63	190-214	270	30-300
Fósforo	600	167-287	199-242	230	140-320
Hierro (mg)	20	2,2-3,2	0,8-2,3	0,2	4-9
Magnesio (mg)	500	100-113	45-86	26	100-125

Cinc (mg)	9	1,4-2,0	0,2-0,9	0,9	2
Vit A (UI)	3	3	150-165	180	1
Vit E (mg)	1	0,25-0,3	0,4-0,6	1,14	0,2
Vit B1 (mg)	0,37	0,04-0,07	0,05-0,1	0,08	0,07
Vit B6 (mg)	0,16	0,04-0,05	0,05-0,11	0,07	0,03
Ac. fólico (micro g)	38	6-10	5-10	10	7,6
Fuente: Revista de Cacao UCH 2015.					

### 2.2.6 Uso Medicinal de *Theobroma Cacao I. Cacao*

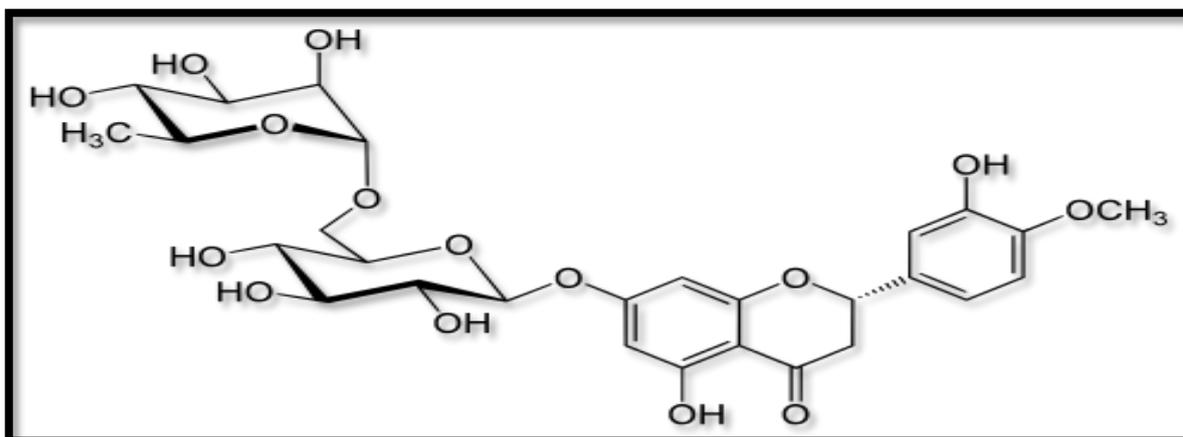
Siguen en estudio las propiedades farmacológicas del Cacao, sin embargo, numerosos estudios con las plantas autóctonas de la región demostraron que tiene propiedades antimicrobianas frente a una amplia gama de patógenos como *Pseudomonasaeruginosa* y *Staphylococcus aureus* por extractos acuosos de las hojas fue demostrada por científicos guatemaltecos (Cáceres et al., 1991). Por otra parte, demostraron la actividad antifúngica de aceites esenciales de las hojas y de extractos alcohólicos de las semillas y las hojas contra dermatofitos como *Trichophyton rubrum* y *Trichophyton mentagrophytes*. Además, se logró identificar componentes de los aceites esenciales de las hojas que pueden ser utilizados en el desarrollo futuro de fármacos para el tratamiento de enfermedades cutáneas típicas de las áreas tropicales. Estudios bacteriológicos demostraron la actividad antimicrobiana en las hojas de cacao, los cuales floculan bacterias Gram positivas y Gram negativas del mismo modo que lo hacen con los coloides del agua. Su acción bacteriostática consiste en la interrupción de la membrana celular por inhibición de enzimas esenciales. El principal ingrediente responsable de dicha actividad es el 4-(4'-O-acetil- $\alpha$ -L-ramnopiranosiloxi)-isotiocionato de *bencilo*, el cual tiene acción bactericida sobre varias especies patógenas, incluyendo aislados de *Staphylococcus*, *Streptococcus* y

*Legionella* resistentes a antibióticos. La potencia de los *isotiocianatos* como antibióticos también quedó demostrada en un estudio con *Helicobacter pylori*, que es el causante de úlceras gástricas y duodenales. En una investigación muy reciente realizada en Kenya se demostró la actividad antimicrobiana de extractos de semillas de Moringa oleífera sobre las bacterias *Salmonella typhi*, *Vibrio cholerae* y *Escherichiacoli*, causantes de la fiebre tifoidea, el cólera y la gastroenteritis, respectivamente. Los autores de la presente reseña consideran que ese resultado puede tener un gran impacto, ya que se trata de agentes antimicrobianos naturales que constituyen un método barato y sostenible para el control de enfermedades y para mejorar la calidad de vida en comunidades pobres. Debe tenerse en cuenta que, en muchas regiones rurales de los países subdesarrollados, debido al alto costo del cloro y otros desinfectantes, no se les practica ningún tratamiento a las aguas, lo que genera enfermedades provocadas por los microorganismos contaminantes.

### **2.2.7 Composición Química del Cacao**

La teobromina es una sustancia alcaloide y amarga que es el equivalente químico de la cafeína en el café. Su nombre se deriva del nombre científico de la planta del cacao. (*Theobroma cacao*). La teobromina tiene efectos estimulantes, vasodilatadores y es un excelente relajante de la musculatura bronquial, lo que puede ser útil en algunos casos de asma. [Korolkovas, 1993

## Estructura química del Cacao



Fuente: Martín et al., 2013

### 2.2.8 Actividad Farmacológicas del Cacao

Aromatizante [semilla]. La semilla encierra un aceite esencial que le da un sabor aromático particular. Comestible [semilla]. Las semillas se muelen y tuestan para obtener la cocoa y el chocolate, sustancias apreciadas en la fabricación de dulces, confituras, helados y bebidas. La industria de chocolate en Europa se desarrolló a lo largo del siglo XIX. En 1828 se registra una patente para la fabricación de chocolate en polvo y el chocolate se pone en venta por primera vez en 1847. En 1876 se impulsa la fabricación del chocolate con leche. Cosmético / Higiene [semilla]. La manteca de cacao se usa para elaborar cosméticos y perfumería. Las semillas contienen hasta 50 % de aceite. El aceite esencial contiene 50% de linalol, un ácido alifático y algunos ésteres. Estimulante [semilla]. El contenido de alcaloides, tales como teobromina (1.5 a 3 %) y cafeína, le confiere propiedades estimulantes. [www.conabio.gob.mx] Medicinal [semilla, hoja, raíz, corteza]. Las semillas, hojas y raíces contienen los alcaloides teobromina y cafeína que tienen propiedades diuréticas y vasodilatadoras. Se ha encontrado actividad antitumoral en la raíz y en la corteza. Nutritivo [semilla y pulpa]. La semilla

es una buena fuente de proteínas y de calorías; la pulpa aporta los mismos elementos, aunque en cantidades menores. [Brack, 1999]

### **2.2.9 Extractos**

Los extractos son preparaciones de consistencia líquida (extractos fluidos y tinturas) o semisólida (extractos blandos o densos), o sólida (extractos secos), obtenidos a partir de drogas vegetales o tejidos animales en estado generalmente seco.

Existen diferentes tipos de extractos. Los extractos ajustados se encuentran dentro de una tolerancia aceptable sobre el contenido de constituyentes con conocida actividad terapéutica. Los extractos estandarizados se logran por ajuste del extracto con sustancias inertes o mezclando lotes de extractos.

Los extractos cuantificados son ajustados a un definido rango de constituyentes. Los ajustes se hacen mezclando lotes del extracto o añadiendo material específico. Otros extractos son esencialmente definidos por su proceso de producción (estado de la droga vegetal o tejido animal a ser extraído, por el solvente, por las condiciones de extracción) y sus especificaciones.

- **Preparación de Extractos**

Los extractos son preparados por métodos apropiados usando etanol u otro solvente adecuado. Pueden ser mezclados diferentes lotes de droga vegetal o tejido animal previo a la extracción. La droga vegetal o tejido animal a ser extraído debe someterse a un tratamiento preliminar, por ejemplo, inactivación de enzimas, molienda o trituración. Además, las materias indeseables deben ser eliminadas antes de la extracción.

Las drogas vegetales, tejido animal y solvente orgánico usado para la preparación de extractos cumplen con cualquiera de las farmacopeas. Para los extractos densos y secos donde el solvente orgánico es eliminado por evaporación, puede usarse solvente recuperado o reciclado, siempre que el procedimiento de recuperación sea controlado y monitoreado para que el

solvente cumpla los patrones apropiados antes del reusó o mezclado con otros materiales aceptados. (25)

El agua usada para la preparación de extractos debe ser de calidad adecuada. Excepto para el ensayo de endotoxinas bacterianas, el agua cumple con la sección de agua purificada de la monografía. El agua potable puede ser usada si cumple con la especificación definida para la producción de un determinado extracto.

Donde sea aplicable, la concentración para lograr la consistencia se logra utilizando métodos adecuados, como son la presión reducida y a una temperatura a la cual el deterioro de los constituyentes es reducido al mínimo.

Los aceites esenciales que hayan sido separados durante el proceso pueden ser repuestos al extracto en una etapa apropiada en el proceso de manufactura. Los excipientes utilizados se pueden adicionar en diferentes etapas convenientes del proceso de manufactura, por ejemplo, mejorar la calidad tecnológica tal como la homogeneidad o consistencia. Los estabilizadores y preservativos antimicrobianos también pueden ser adicionados.

La extracción con un solvente dado conduce a las proporciones típicas de un constituyente caracterizado en la materia extraíble. No obstante, durante el proceso de estandarización y cuantificación, se pueden aplicar procedimientos de purificación para incrementar estas proporciones con respecto al valor esperado, tales extractos se refieren como “refinados”.

- **Rotulado de Extractos**

En la identificación del producto obtenido de una droga vegetal o tejido animal debe especificarse lo siguiente: Si el extracto es líquido, blando, seco o si es una tintura.

Para extracto estandarizado: contenido de principios activos conocidos.

Para extractos cuantificados: el contenido de constituyentes usados para la cuantificación, la proporción de material de partida añadido al extracto original. El solvente o solventes usados para la extracción.

Donde sea aplicable especificar que la droga vegetal o tejido animal utilizado es fresco. Donde sea aplicable que el extracto es refinado. El nombre y la cantidad de cualquier excipiente usado incluyendo los estabilizadores y preservativos antimicrobianos. Donde proceda, especificar el porcentaje de residuo seco.

### **2.2.10 Cicatrización**

Es un proceso biológico mediante el cual los tejidos vivos reparan sus heridas dejando -para el caso de las heridas cutáneas- una cicatriz que puede ser estética o inestética. Cuando una persona sufre una herida en el proceso de reparación se llevan a cabo una serie de complejas reacciones bioquímicas que suceden para reparar el daño. Estos fenómenos ocurren con cierto solapamiento temporal y pueden ser divididos para su estudio en las siguientes fases: inflamatoria, proliferativa, y de remodelación.

Los intentos del organismo para reparar las lesiones inducidas por agresiones locales comienzan muy precozmente en el proceso de la inflamación, y finalmente concluyen con la reparación y sustitución de las células lesionadas por células sanas. El proceso de cicatrización de una herida en la piel involucra la compleja interacción de muchos tipos de células y ocurre como una cascada secuencial de procesos solapados e íntimamente relacionados.

Existen varios modelos farmacológicos experimentales que permiten evaluar la acción cicatrizante de un principio activo, profundizando en los eventos específicos de la cicatrización. En este trabajo se presentarán los detalles de algunos de estos modelos, los cuales son: modelo de lesión inducida por quemadura en curieles, modelo de 6 heridas asépticas en cerdos, promoción de cicatrización por segunda intención en ratas y modelo

para predecir la distribución de un medicamento aplicado tópicamente en heridas. Estos ensayos permiten el estudio de múltiples elementos histológicos, bioquímicos, celulares y clínicos, característicos del proceso de cicatrización.

### 2.2.11 Bacterias

Las bacterias son células unicelulares procariota de pequeño tamaño y estructura sencilla, cuyo material genético no se encuentra envuelto por la membrana nuclear.

#### a. Estructura bacteriana

**Elementos Obligados:** Como se define obligados son aquellas que se requieren que estén presentes en las bacterias de manera indispensable para la vida propia del celular unicelular procariota.

- Pared celular
- Membrana Citoplasmática
- Citoplasma y Organelas
- Cromosoma Bacteriano

**Elementos Facultativos:** son aquellas que pueden estar o no presentes en la bacteria.

- Capsula
- Flagelo/Pilis
- Esporas e Inclusiones citoplasmáticas

### 2.2.12 Cremas

Existen 2 tipos de cremas.

- #### a. Cremas lipófilas.-
- o emulsiones de agua dispersa en grasa, llamadas cremas water in oil (W/O). Ideales para formular fármacos liposolubles.

Cuando se aplican sobre la piel, y por el efecto del cambio de temperatura, se evapora el agua incorporada, provocando una sensación refrescante y la parte grasa se absorbe. No se mezclan con exudados de la piel y sudor, pero sí los absorben parcialmente. Poseen un efecto oclusivo moderado, pero no congestivo, como las pomadas y ungüentos. Se recomiendan en casos de piel seca o dermatosis crónica. Son adecuadas para liberar principios activos en la piel. Debido a su mayor proporción de grasa, no se quitan con agua. Un ejemplo de crema W/O es la cold cream, utilizado en cosmética y como excipiente en dermatología, que está hecha con aceite de ballena, aceite de almendras dulces, agua y cera de abeja como emulsionante.

- b. Cremas hidrófilas.-** o emulsiones de grasa en agua o crema oil in water (O/W). Son las más adecuadas para formular fármacos hidrosolubles. Tienen efecto evanescente: después de su aplicación, pierden el agua rápidamente sin dejar ningún residuo apreciable. Por la pequeña cantidad de grasa, tienen poco efecto oclusivo, y esta grasa se absorbe rápidamente en la piel. Se mezcla bien con exudados cutáneos. Son ideales para proteger

## 2.3 Formulación de hipótesis

### 2.3.1 Hipótesis general

El uso de la crema que contiene extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao L. (cacao)* favorece la actividad cicatrizante en ratas albinas (Holtzman)

### 2.3.2 Hipótesis Específicas

- Diversas concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao L. (cacao)* incorporadas en una crema presenta concentración eficaz en la actividad cicatrizante en ratas albinas (Holtzman)
- La concentración de la crema que contiene el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao l. (cacao)* tiene actividad cicatrizante en ratas albinas (Holtzman)
- La actividad cicatrizante en distintas concentraciones de la crema del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao L. (cacao)* en ratas albinas (Holtzman) tendrá diferente cicatrización en comparación del fármaco Sulfacrem.

## 2.4 Variables

### 2.4.1 Tabla de Operalización de Variables

Variables	Definición conceptual	Definición operacional	Indicadores
<p><b>Independiente:</b></p> <p>La crema del Extracto hidroalcohólico de la hojas de <i>Theobroma cacao L.</i></p>	<p>Los componentes activos presentes en la especie vegetal presentaran propiedades biológicas muy variadas y suelen aplicarse en terapia de diferentes problemas de salud.</p>	<p>Metabolitos Secundarios</p> <p>Prueba de solubilidad</p>	<p>Alcaloides, Compuestos fenólicos, Cumarinas, Azucares reductores, entre otros.</p> <p>Agua, Acetona, N-hexano, Cloroformo, Eter dietilico, Metanol y Etanol.</p>
<p><b>Dependiente:</b></p> <p>Efecto Cicatrizante</p>	<p>Valoración de la actividad cicatrizante de diferentes componentes Químicos que sirven de sustento en la investigación para el empleo correcto en heridas Inducidas en Ratas Albinas (Hotlzman)</p>	<p>% de cicatrización</p>	<p>% de eficacia.</p>

### **Variable independiente.**

La crema elaborada con el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao L.*

### **Variables dependientes.**

Efecto Cicatrizante.

#### 2.4.2 Marco Conceptual

**Cicatrización:** La cicatrización es un proceso biológico encaminado a la reparación correcta de las heridas, por medio de reacciones e interacciones celulares, cuya proliferación y diferenciación esta mediada por citoquinas, liberadas al medio extracelular. Las fases de la cicatrización se dividen en inflamación, proliferación y maduración. La inflamación es la liberación de componentes de la sangre.

**Herida.** Proceso de reparación se llevan a cabo una serie de complejas reacciones bioquímicas que suceden para reparar el daño. Estos fenómenos ocurren con cierto solapamiento temporal y pueden ser divididos para su estudio en las siguientes fases: inflamatoria, proliferativa, y de remodelación (algunos autores consideran que la cicatrización ocurre en cuatro o más etapas, si se subdividen las fases inflamatorias o de proliferación en pasos intermedios).

**Piel.** Es señalado como el órgano más grande en los animales y en los seres humanos. Se trata de un tegumento que, en el caso de los organismos con vértebras, se compone de una capa exterior (denominada epidermis) y de otra interior (que recibe el nombre de dermis)

**Dermis.** Es la capa de la piel situada por debajo de la epidermis. Tiene abundantes vasos sanguíneos y linfáticos, con muchas terminaciones nerviosas sensitivas para el tacto, el dolor, la presión y el frío/calor. En esta capa hay la raíz de los pelos, las

glándulas sudoríparas y las glándulas sebáceas. La dermis es rica en células defensivas.

**Epidermis.** -Membrana epitelial que recubre la parte más superficial del cuerpo.

**Componentes de la Piel.** - La piel es el órgano de mayor tamaño del cuerpo. Cerca de seis libras (unos 2.7 kilos) de piel cubren 18 pies cuadrados (unos 1.67 metros cuadrados) en un adulto promedio.

**La capa exterior de la piel.-** se conoce como epidermis. Protege las capas subyacentes del mundo exterior y contiene células que producen queratina, una sustancia que impermeabiliza y fortalece la piel. La epidermis también tiene células que contienen melanina, la pigmentación oscura que le da a la piel su color. Otras células de la epidermis nos permiten tener el sentido del tacto y brindan inmunidad al cuerpo contra invasores externos como gérmenes y bacterias.

**La capa más profunda de la piel.-** se conoce como hipodermis. Contiene las células de grasa, o tejido adiposo, que aíslan al cuerpo y ayudan a conservar el calor. La capa entre la hipodermis y la epidermis se llama dermis. Contiene las células que brindan fuerza, apoyo y flexibilidad a la piel. A medida que una persona envejece, las células de la dermis pierden fortaleza y flexibilidad, lo que causa que pierda su apariencia juvenil.

**En la dermis.-** se encuentran los receptores de sensaciones. Permiten al cuerpo recibir estimulación del mundo exterior y experimentar presión, dolor y temperatura. Pequeños vasos sanguíneos proveen nutrientes a la piel y retiran los desechos.

**Las glándulas sebáceas.-** producen grasa en la piel, que evita que se seque. La grasa de las glándulas sebáceas también ayuda a suavizar el pelo y a matar bacterias que podrían entrar por los poros. Estas glándulas de grasa están por todo el cuerpo, excepto en las palmas de las manos y las plantas de los pies.

**Metabolitos.** – Se llaman metabolitos secundarios de las plantas a los compuestos químicos sintetizados por las plantas que cumplen funciones no esenciales en ellas, de forma que su ausencia no es letal para el organismo, al contrario que los

metabolitos primarios. Los metabolitos secundarios intervienen en las interacciones ecológicas entre la planta y su ambiente.

**Extracto.** - Un extracto es una sustancia obtenida por extracción de una parte de una materia prima, a menudo usando un solvente como etanol o agua. Los extractos pueden comercializarse como tinturas o en forma de polvo. Los principios aromáticos de muchas especias, frutos secos, hierbas, frutas, etcétera y algunas flores se comercializan como extractos, estando entre los extractos auténticos más conocidos los de almendra, canela, clavo, jengibre, limón, nuez moscada, naranja, menta, pistacho, rosa, hierbabuena, vainilla, violeta y té de Canadá.

**Maceración.** - La maceración es un proceso de extracción sólido-líquido. El producto sólido (materia prima) posee una serie de compuestos solubles en el líquido extractante que son los que se pretende extraer.

## **CAPÍTULO III**

### **MÉTODOLOGIA**

#### **3.1 Tipo de estudio**

En su tipificación metodológica el estudio responde al carácter Cuantitativo, explicativo y aplicado.

#### **3.2 Diseño a utilizar**

El estudio realizado fue de tipo experimental, de diseño longitudinal y prospectivo, a fin de determinar y registrar datos a medida que ocurren en el tiempo de un fenómeno.

#### **3.3 Población**

Las hojas de *Theobroma cacao L.* 3 kilos serán recogidas en la Localidad de Oxapampa, departamento de Junín, país Perú.

#### **3.4 Muestra**

Dos kilos de hojas de *Theobroma cacao L.* donde serán trasladados bajo condiciones de buenas prácticas de transporte para su identificación taxonómica en el Museo Botánico de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos

#### **3.5 Técnicas e instrumentos de recolección de datos**

Para el estudio fitoquímico del extracto de las hojas de *Theobroma cacao L.* se realizaron mediante Pruebas de solubilidad, marcha fitoquímica,

cromatografía en capa fina, determinación de espectrofotometría para hallar el metabolito secundario responsable de la actividad Cicatrizante.

## **Instrumentos**

Ficha ad doc. De recolección de datos para la actividad Microbiológica, prueba de solubilidad, marcha fitoquímica y Cromatografía de Capa Fina elaborada por los investigadores y validados por Docentes Investigadores de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega en Lima Perú.

### **3.6 Procesamiento de datos**

Los datos serán evaluados utilizando el sistema estadístico SPSS versión 205, de evalúa la media y el promedio de los datos para cada una de las muestras, también se empleó ANOVA para determinar la contratación de hipótesis

### **3.7 Procedimiento experimental**

Se utilizaron 30 Ratas Albinas (Hotzman), adquiridos con una certificación sanitaria del Instituto Nacional de Salud (INS) se Llevaron a un bioterio especializado en tratamiento de ratas para luego ser inducidos a las heridas por incisión, para ser tratadas con tratamiento natural y farmacológico como indica los antecedentes para ser medidos la actividad cicatrizante se empleara en instrumento de medición vernier, posteriormente se registraron los resultados obtenidos y discutidos con los antecedentes, con las concentraciones de nuestra investigación de la crema del extracto hidroalcohólico de hojas de *Theobroma cacao L.*

## Diseño experimental

Cuadro 1. Diseño experimental consta de 6 grupos de 5 ratas albinas (Holtzman)

Grupos	Inducción de Heridas	Tratamiento	Recolección de datos por semanas	
			7	15
Grupo 1			X	x
Grupo 2	✓		X	x
Grupo 3	✓	Crema del extracto hidroalcohólico de <i>Theobroma cacao L.</i> 10% 100 mg/kg	X	x
Grupo 4	✓	Crema del extracto hidroalcohólico de <i>Theobroma cacao L.</i> 20% 200 mg/kg	X	x
Grupo 5	✓	Crema del extracto hidroalcohólico de <i>Theobroma cacao L.</i> 30% 300 mg/kg	X	x
Grupo 6	✓	Control con el medicamento Sulfacrem	x	x

- a) En el caso del grupo 1 será el Blanco. No se administrará ningún tipo de Drogas.
- b) En todos los casos del grupo 2 al grupo 6 serán se hicieron las incisión experimental el grupo 2 no recibirá tratamiento
- c) En los grupos 3, 4, 5 luego se realizó la incisión y serán tratadas sus cicatrizaciones con la crema del extracto hidroalcohólico de hojas de *Theobroma cacao L.*
- d) El Grupo 6 se administró con el medicamento Sulfacrem
- e) Los resultados serán registraran en los 7 días y 15 días.
- f) Se recolectará los datos después de 24 y 48 horas para su discusión de resultados.

## CAPÍTULO IV

### PRESENTACION DE RESULTADOS

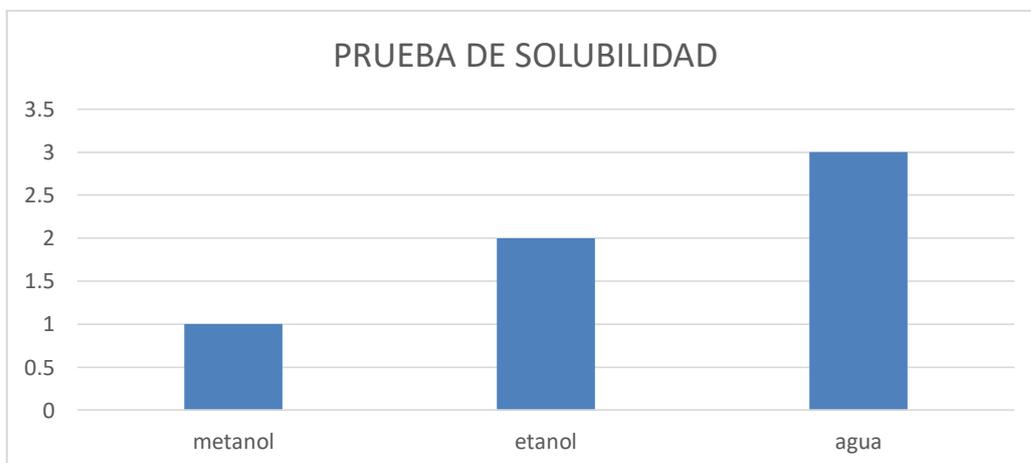
#### 4.1 Presentación de resultados

Tabla 1.

*Pruebas de solubilidad del extracto hidroalcohólico de hojas de Theobroma cacao L. (Cacao)*

Solventes	Resultados
Metanol	+
Etanol	++
Cloroformo	-
Agua destilada	+++
Éter	-
Hexano	-
Butanol	-
Acetona	-

Leyenda: Altamente soluble (+++) Modera solubilidad (++) Poco soluble +No soluble 0



Se demuestra la alta solubilidad del hojas de *Theobroma cacao L. (Cacao)*

**Tabla N° 2** Marcha Fitoquímica del extracto hidroalcohólico de

hojas de *Theobroma cacao* L. (Cacao)

Muestra n°	Componente Químico	Ensayo	reacción	resultado
1	Alcaloides	Mayer	Precipitado blanco	++
2		Dragendroff	Precipitado rojo-naranja	+++
3	Lactonas	Baljet	Coloración rojo oscuro	-
4	Quinonas	Bortranger	Coloración roja	+
5	Carbohidratos	Antrona	Coloración verde	-
6		Fehling A y B	Precipitado rojo ladrillo	+
7		Molish	Anillo violeta	-
8	Compuestos fenólicos	Tricloruro Férrico	Coloración verde o azul	++
9	Taninos	Gelatina	Turbidez blanquesina	+
10	Flavonoides y flavonas	Shinoda	Coloración amarillo a rojo	+
11	Antocianinas y flavonoides catequicos	Rosenheim	Coloración rojo oscuro	-
12	Esteres y terpenos	Lieberman-Burchard	Esteroides: verde-azul	+
			Triterpenoides: rojo-naranja	
13	Aminoácidos libres	Ninhidrina	Coloración violacea	-
14	Saponinas	Espuma	Formación de 0,5cm de espuma persistente de 5 a 30min.	-

**LEYENDA:**

- Ausente (-)
- Leve (+)
- Moderada (++)
- Abundante (+++)

Tabla N° 3

Reporte de actividad cicatrizante Sin Tratamiento extracto hidroalcohólico de hojas de *Theobroma cacao*. L (Cacao)

Concentración	N° de rata	Incisión	Área de cierre de herida (cm <sup>2</sup> )				
			0 días	5 días	10 días	15 días	20 días
0.9%	1	Área	1	0.9801	0.893	0.819	0.7055
	2	Área	0.99	0.9604	0.9312	0.8464	0.7392
	3	Área	0.9801	0.912	0.8648	0.792	0.6642
	4	Área	0.99	0.9506	0.912	0.8188	0.7052
	5	Área	1	0.9702	0.912	0.8188	0.697

Resultados: el control negativo, demostró una eficacia de cicatrización del 30% en las heridas producidas en el ensayo de actividad cicatrizante hojas de *Theobroma cacao* L. (Cacao)

Tabla N° 4

Reporte de actividad cicatrizante control especialidad farmacéutica sulfacrem

Concentración	N° de rata	Incisión	Área de cierre de herida (cm <sup>2</sup> )				
			0 días	5 días	10 días	15 días	20 días
Forma farmacéutica	1	Área	1	0.828	0.036	0.0195	0.0055
	2	Área	1	0.8463	0.0399	0.011	0.0045
	3	Área	1	0.9024	0.0418	0.0156	0.0039
	4	Área	1	0.8556	0.0399	0.0132	0.0042
	5	Área	1	0.8372	0.038	0.0143	0.0045

Resultados: el control positivo, demostró una eficacia de cicatrización del 99.65% en las heridas producidas en el ensayo de actividad cicatrizante.

Tabla N° 5

Reporte de actividad cicatrizante" la Crema Hidroalcohólico del extracto del hojas de *Theobroma cacao* L. (Cacao)al 20%

Concentración	N° de rata	Incisión	0 días	5 días	10 días	15 días	20 días
20%	1	Área	1	0.9801	0.8372	0.7392	0.0125
	2	Área	1	0.9801	0.8556	0.7452	0.0129
	3	Área	1	0.9604	0.8372	0.624	0.0135
	4	Área	0.99	0.9506	0.8463	0.616	0.0126
	5	Área	1	0.9801	0.8742	0.624	0.0125

Resultados: el extracto de la Crema Hidroalcohólico del extracto de la hojas de *Theobroma cacao* L. (Cacao)20%, demostró una capacidad cicatrizante del 46%

Tabla N° 6

Reporte de actividad cicatrizante lacrema hidroalcohólico del extracto de las hojas de *Theobroma cacao* L. (Cacao) al 30%

Concentración	N° de rata	Incisión	Área de cierre de herida (cm2)				
			0 días	5 días	10 días	15 días	20 días
30%	1	Área	0.99	0.9216	0.6318	0.4092	0.0025
	2	Área	0.99	0.9215	0.6642	0.3024	0.0026
	3	Área	0.99	0.9409	0.6399	0.3658	0.0022
	4	Área	1	0.9312	0.6006	0.3904	0.0023
	5	Área	0.99	0.9604	0.6083	0.3717	0.0025

Resultados: el extracto de la Crema Hidroalcohólico del extracto del hojas de *Theobroma Cacao* l. (Cacao) al 30%, demostró una capacidad cicatrizante del 79%

Tabla N° 7

Reporte de actividad cicatrizante la crema hidroalcohólico del extracto del hojas de *Theobroma cacao* L. (Cacao) al 30%

Concentración	N° de rata	Incisión	Área de cierre de herida (cm <sup>2</sup> )				
			0 días	5 días	10 días	15 días	20 días
100%	1	Área	1	0.9702	0.7826	0.3472	0.0020
	2	Área	0.99	0.9604	0.7392	0.3904	0.0022
	3	Área	0.99	0.9408	0.7917	0.348	0.0019
	4	Área	0.99	0.9408	0.7917	0.348	0.0019
	5	Área	0.99	0.9312	0.7654	0.3658	0.0020

Resultados: el extracto de la Crema Hidroalcohólico del Extracto de las hojas de *Theobroma cacao L. (Cacao)* al 30%, demostró una capacidad cicatrizante del 83%.

## 4.2 Contratación de hipótesis

Prueba de hipótesis:	
H0 =	No existen diferencias significativas entre las medias de todos los grupos ( $P > 0.05$ )
Ha =	Existen diferencias significativas entre las medias de todos los grupos ( $P < 0.05$ )

Nivel de significancia de la prueba de hipótesis de la crema hidroalcohólica del extracto de las hojas de *Theobroma cacao L. (Cacao)* 30%, demostró una capacidad cicatrizante del 83%

*Tabla N° 8*

la Crema Hidroalcohólica del Extracto del	Concentración al 30%			Nivel de Significancia
	30%, demostró una capacidad cicatrizante del 83%	Control positivo	Control negativo	
0.2448		0.0056	0.7055	$P < 0.05$
0.2244		0.0054	0.7392	$P < 0.05$
0.2597		0.0036	0.6642	$P < 0.05$
0.23		0.0042	0.7052	$P < 0.05$
0.2112		0.0035	0.697	$P < 0.05$

Como el nivel de significancia usado es de 0.05, y p hallado es menor a ese valor, rechazamos la hipótesis nula y aceptamos la alterna, por lo tanto, existe disminución del área de cierre tras la administración la Crema Hidroalcohólica del extracto de las hojas de *Theobroma cacao L. (Cacao)* al 30%

Tabla N° 9

Nivel de significancia de la prueba de hipótesis de la Crema Hidroalcohólico del Extracto de las *hojas de Theobroma cacao L. (Cacao)* en concentración al 30%

Concentración al 30%			Nivel de Significancia
la Crema Hidroalcohólico del hojas de <i>Theobroma Cacao L. (Cacao)</i>	C+	C –	
0.2016	0.0056	0.7055	P < 0.05
0.2016	0.0054	0.7392	P < 0.05
0.1755	0.0036	0.6642	P < 0.05
0.1755	0.0042	0.7052	P < 0.05
0.1806	0.0035	0.697	P < 0.05

Como el nivel de significancia usado es de 0.05, y p hallado es menor a ese valor, rechazamos la hipótesis nula y aceptamos la alterna, por lo tanto, existe disminución del área de cierre tras la administración la Crema Hidroalcohólico del Extracto de las hojas de *Theobroma cacao L. (Cacao)* al 30%

Tabla N° 10

Nivel de significancia de la prueba de hipótesis de la Crema Hidroalcohólico de las *hojas de Theobroma cacao L. (Cacao)* al 20%

Concentración al 20%			Nivel de Significancia
la Crema Hidroalcohólico del Extracto de las semillas de hojas de <i>Theobroma Cacao L. (Cacao)</i>	C+	C –	
0.54	0.0056	0.7055	P < 0.05
0.5772	0.0054	0.7392	P < 0.05
0.608	0.0036	0.6642	P < 0.05
0.5616	0.0042	0.7052	P < 0.05
0.576	0.0035	0.697	P < 0.05

Como el nivel de significancia usado es de 0.05, y p hallado es menor a ese valor, rechazamos la hipótesis nula y aceptamos la alterna, por lo tanto, existe disminución del área de cierre tras la administración de extracto alcohólico de la

Crema Hidroalcohólico del Extracto de las hojas de *Theobroma cacao L. (Cacao)* al 20%.

### **Prueba de hipótesis:**

H<sub>0</sub> = No existen diferencias significativas entre las Medias de todos los grupos ( $P > 0.05$ )

H<sub>a</sub> = Existen diferencias significativas entre las Medias de todos los grupos ( $P < 0.05$ )

### **4.3 Discusión de resultados**

- Al realizar la marcha fitoquímica, se identificó los metabolitos secundarios del extracto Hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao L. (Cacao)* presentó evidenciándose la de compuestos flavónicos, alcaloides y aminoácidos, estos resultados confirman los hallados por Guillermo R. et al, Bonilla P. quienes al analizar a otras Investigaciones similares con estos componentes Químicos.
- Al comparar la acción cicatrizante con el medicamento comercial Sulfacrem, se evidenció que esta presentación farmacéutica posee un efecto cicatrizante lo que lo hace superior a los extractos estudiados..
- Al determinar la concentración de la crema a base de componentes químicos o metabolitos secundarios del extracto alcohólico de las hojas de *Theobroma cacao L. (Cacao)*, que posee más efecto cicatrizante, se pudo evidenciar que el efecto al 20% y 30%, es el que demuestra la más alta actividad de cicatrización, estos resultados se comparan a los de Prado I. y Mogrovejo, A. quienes utilizaron concentraciones similares encontrando una eficacia en el proceso de cicatrización.
- En la investigación “Efecto cicatrizante de *Bidens pilosa* (amor seco) sola realizado por Gutierrez 2015 en asociación a *Lippia nodiflora* (tikil tikil) en animales de experimentación”. Se evaluó el efecto cicatrizante de *Bidens*

pilosa (amor seco) sola y en asociación a *Lippia nodiflora* (tikil tikil) sobre heridas, se utilizó el test de cicatrización descrito por Howes, para heridas incisas, se evaluó en comparación con (CICATRICURE®) la actividad cicatrizante. Al hacer el análisis de ANOVA se demostró la Eficacia cicatrizante a la concentración del 20% de amor seco y 30 % de las hojas de *Theobroma cacao L. (Cacao)* a un nivel confianza del 0.05, Por lo que se concluye que la crema elaborada con el extracto hidroalcohólico de hojas de *Theobroma cacao L. (Cacao)* 10% es el de mayor eficacia cicatrizante a un nivel de confianza del 0.05 bajo un esquema experimental en ratas de laboratorio. Utilizando el método descrito por Nayak y col, 2005.

## CAPÍTULO V

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1 Conclusiones.

- Durante el proceso experimental del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao L. (Cacao)* presentó compuestos fenólicos, taninos, flavonoides, alcaloides, cumarinas y azúcares reductores, de mucha importancia en la cicatrización.
- En las concentraciones de 30% y 10 % del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma Cacao l. (Cacao)* provocó efecto cicatrizante, alcanzando un buen porcentaje se determinó, que hay significancia.
- Finalmente: El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma Cacao l. (Cacao)* presenta actividad Cicatrizante inducidas en Ratas Albinas (Hotlzam) frente a un sulfacrem.

## 5.2 Recomendaciones.

Con el contexto de los datos obtenidos en la investigación se propone las siguientes recomendaciones:

- Realizar estudios con otras especies vegetales que tengan propiedades cicatrizantes y poder demostrar su alta eficacia.
- Recomendar el uso de preparaciones con las hojas de *Theobroma cacao* L. (*Cacao*) a fin de que sirva de coadyuvante el tratamiento de cicatrización.
- Se recomienda realizar estudios similares con variedad de las hojas de *Theobroma cacao* L. (*Cacao*) obtenidos en otras regiones y compararlos con otros cicatrizantes.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1.- Singh - Nee Nigam P, Robinson R, Batt C, Patel P. Cocoa and coffee fermentations. In: Encyclop Food Microbiol. London: Academic Press.
2. - Revista Cayetano Heredia
- 3.-. Othman A, Ismail A, Abdul N, Adenan I. Antioxidant capacity and phenolic content of cocoa beans . Food Chem 2007; 100:1523-1530
4. - Oddoye E, Rhule S, Agyente-Badu K, Anchirinah V, Ansah F. Fresh cocoa pod husk as an ingredient in the diets of growing pigs. Sci Res Essays 2010.
- 5.- Barazarte H, Sangronis E, Unai E. La cáscara de cacao (*Theobroma cacao* L.): una posible fuente comercial de pectinas. Arch Latinoam Nutr 2008; 58: 64-70
- 6.- Castro
- 7.- Taroco V. et al (2001). Métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica. Procedimientos de Microbiología Clínica; 663-670.
- 8.- Encuesta Demográfica y de Salud Familiar - ENDES Instituto Nacional de Estadística e Informática. Encuesta Demográfica y de Salud Familiar 2016.
- 9.- Cervantes E. et al (2014). Revista Latinoamericana de Patología Clínica y Características generales de las Bacterias. México. Pág. 54, 59,78.
- 10.- Mamani
- 11.- Barbarán Urresti, Cecilia Fátima. “Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro de extractos vegetales de las especies de *Tabernaemontana* frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*, de la región Loreto, Perú”

[Tesis para optar por el título profesional de Químico Farmacéutico] Universidad Nacional de la Amazonia Peruana. Facultad de Farmacia y Bioquímica. 2014.

- 13.- Quintero ML, Díaz KM. El mercado mundial de cacao. Agroalim 2004;
- 14.- María Pérez, Lilibeth Cabrera, Gisela Colina. Actividad antibacteriana in vitro de extractos acuoso de moringa oleífera sobre especies patógenas intrahospitalarias 2015.
15. - Edwards H, Villar S, de Oliveira L, Le Hyari M. Analytical Raman spectroscopic Study of cacao seeds and their chemical extracts. Anal Chim Acta 2005; 538: 175-180.
16. - Olubamiwa O, Otun A, Longe O, Dietary inclusion rate of cocoa husk for starter cockerels. Int J Poult Sci 2002; 1: 133 – 135
- 17.- Lipp M, Simoneau C, Ulberth F, Anklam E, Crews C, Brereton P, et al. Composition of cocoa butter and cocoa butter equivalents. J Food Comp Anal 2001; 14: 399-408.
- 18.- Goodman y Gilman “las Bases Farmacológicas de la Terapéutica” Editorial Mc Graw Hill pág. 56 12va Edición.
- 19.- Kuklinski, C. Et al (2000). Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Barcelona, Omega 515.
- 20.- Guillem Prats Microbiología y Parasitología Medica” Editorial Panamericana pág. 234 9na Edición.
21. - Osawa K, Miyazaki K, Shimura S, Okuda J, Matsumoto M, Ooshima T. Identification of cariostatic substances in the cacao bean husk: their anti-glucosyltransferase and antibacterial activities. J Dent Res 2001; 80: 2000-2004.

- 22.- Padrón G, Arias E, Romero J, Benavides A, Zamora J, García S. Efecto de la cáscara de cacao en la obtención de espumas de poliuretano para uso hortícola. Propiedades físicas y de biodegradabilidad. Rev Soc Quím Méx 2004; 48:156-164
- 23.- Agronet 2010. Análisis - Estadísticas. Área Cosechada, Producción y Rendimiento de Cacao, 2009 – 2010. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Disponible en línea en:  
<http://www.agronet.gov.co/www/htm3b/ReportesAjax/VerReporte.aspx> (Consulta: Diciembre 31 de 2018)
- 24.- Azuero A. Et al (2016). Análisis del efecto antimicrobiano de doce plantas medicinales de uso ancestral en ecuador. Revista Ciencia UNEMI Vol. 9, N° 20, septiembre 2016,
- 25.- Abarca D, Martínez R, Muñoz J, Torres M, Vargas G. Residuos de café, cacao y cladodio de tuna: Fuentes promisorias de fibra dietaria. Rev Tecnol 2010; 23: 63-69.
- 26.- Andrews JM. Determination of minimum inhibitory concentration. J Antimicrob Chemother 2001; 48 (Supl 1):5-16..
- 27.- The National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Vol. 23. 8th ed. Wayne: NCCLS; 2003 (NCCLS document M2 – A8).
- 28.- Niemenak N, Rohsius C, Elwers S, Omokolo D, Lieberei R. Comparative study of different cocoa (*Theobroma cacao* L.) clones in terms of their phenolics and anthocyanins contents. J Food Comp Anal 2006; 19:612-619

- 29.- Aligiannis N, Kalpotzakis E, Mitaku S, Chinou I. Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species. *J Agric Food Chem* 2001; 40: 4168 – 4170
- 30.- Gaviari A. Et al (2011). Potential activity of the purine compounds caffeine and aminophylline on bacteria. *J Glob Infect Dis* 3: 133-7

## **ANEXOS:**

## Matriz de consistencia.

Título: ELABORACION DE UNA CREMA CON EL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE LAS HOJAS DE <i>Theobroma cacao</i> L. ( <i>Cacao</i> ) PARA EVALUAR SU ACTIVIDAD CICATRIZANTE EN RATAS ALBINAS ( <i>Holtzman</i> ).					
Problema General	Objetivo General	Hipótesis General	Variable Independiente	Indicadores	Método de Investigación
¿La crema elaborada con el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Theobroma cacao</i> L. ( <i>Cacao</i> ) presentará actividad cicatrizante en ratas albinas ( <i>hotzman</i> )?	Elaborar una crema que contiene extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Theobroma cacao</i> L. ( <i>cacao</i> ) y evaluar su actividad cicatrizante en ratas albinas ( <i>Hotlzman</i> ).	El uso de la crema que contiene extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Theobroma cacao</i> L. ( <i>cacao</i> ) favorece la actividad cicatrizante en ratas albinas ( <i>Holtzman</i> )	extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Theobroma cacao</i> L. ( <i>cacao</i> )	a. Marcha fitoquímica b. Solubilidad concentración del extracto	<p><b>Nivel:</b> Experimental.</p> <p><b>Enfoque:</b> Cuantitativo Longitudinal</p> <p><b>Diseño Específico:</b> Experimental Ensayo pre-clínico</p> <p><b>Temporalidad:</b> Prospectivo.</p> <p><b>Propósito:</b> Aplicativo</p> <p><b>Instrumento:</b> Ficha de recolección de datos</p>
Problemas específicos	Objetivos específicos	Hipótesis Específicos	Variable Dependiente	Indicadores	Población y muestra:
¿Qué concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Theobroma cacao</i> L. ( <i>cacao</i> ) incorporadas en una crema permitirá obtener la concentración de la cicatrización?  ¿Cuál será la concentración específica de la crema que contiene el extracto	Determinar como la concentración de las hojas de <i>Theobroma cacao</i> L. ( <i>cacao</i> ) que influye en la cicatrización por inducción en ratas albinas ( <i>Hotzman</i> )  Obtener la concentración que contiene el extracto	Diversas concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Theobroma cacao</i> L. ( <i>cacao</i> ) incorporadas en una crema presenta concentración eficaz en la actividad cicatrizante en	Actividad cicatrizante.	A% cicatrizacion	30 ratas albinas ( <i>holtzman</i> )

<p>hidroalcohólico de las hojas de <i>Theobroma cacao L. (cacao)</i> que presentará actividad cicatrizante en ratas albinas (Hotlzman)?</p> <p>¿Cuál será la actividad de cicatrización por inducción experimental frente a la crema que contiene el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Theobroma cacao L. (caco)</i> en comparación con el fármaco Sulfacrem?</p>	<p>hidroalcohólico de las hojas de <i>Theobroma cacao L. (cacao)</i> en cicatrización por inducción experimental en ratas albinas (Hotlzman)</p> <p>Evaluar la actividad cicatrizante de la crema elaborada con el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Theobroma cacao l. (cacao)</i> en comparación con el fármaco Sulfacrem</p>	<p>ratas albinas (Holtzman)</p> <p>La concentración de la crema que contiene el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Theobroma cacao l. (cacao)</i> tiene actividad cicatrizante en ratas albinas (Holtzman)</p> <p>La actividad cicatrizante en distintas concentraciones de la crema del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Theobroma cacao L. (cacao)</i> en ratas albinas (Holtzman) tendrá diferente cicatrización en comparación del fármaco Sulfacrem.</p>			
---	---	---	--	--	--

## Matriz de Operacionalización de variables.

Variables	Definición Conceptual	Definición Operacional	Indicadores
Independiente: extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Theobroma cacao</i> L. ( <i>cacao</i> )	Producto de la maceración en alcohol 70% por 10 días, concentrado en estufa hasta eliminación del solvente, conservado y almacenado en envase de vidrio color ámbar.  Administrado según la concentraciones.	Maceración en alcohol 70% por 10 días, concentrado en estufa a 40°C.	Concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Theobroma cacao</i> L. ( <i>cacao</i> administrado).
Dependiente: Actividad cicatrizante	Actividad antibacteriana luego de la administración del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Theobroma cacao</i> L. ( <i>cacao</i> )	Evaluación del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Theobroma cacao</i> L. ( <i>cacao</i> )	% cicatrización



"Año de la lucha contra la corrupción y la impunidad"

## CONSTANCIA N° 287-USM-2019

LA JEFE (e) DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (semillas), recibida de **Julio César Capuñay Píeffi**; de la Universidad Inca Garcilaso; ha sido estudiada y clasificada como: *Theobroma cacao* L.; y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988):

**DIVISION: MAGNOLIOPHYTA**

**CLASE: MAGNOLIOPSIDA**

**SUB-CLASE: DILLENIIDAE**

**ORDEN: MALVALES**

**FAMILIA: MALVACEAE**

**GENERO: *Theobroma***

**ESPECIE: *Theobroma cacao* L.**

Nombre vulgar: "Cacao".

Determinado por: Mg. María Isabel La Torre Acuy

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 12 de setiembre de 2019

  
Joaquina Albán Castillo  
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)



JAC/ddb.



INSTITUTO NACIONAL DE SALUD  
CENTRO NACIONAL DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS  
COORDINACIÓN DE BIOTERIO

CERTIFICADO SANITARIO N° 209 - 2019

Producto	: Rata Albina	Lote N°	: R - 08- 2019
Especie	: <u>Rattus norvegicus</u>	Cantidad	: 30
Cepa	: Holtzman	Edad	: 2 meses ½
Peso	: 200 a 250 g.	Sexo	: macho
G.R.	: 0037898	Destino	: Universidad Inca Garcilaso de la Vega
Fecha	: 23-08-2019		

El Médico Veterinario, que suscribe, **Arturo Rosales Fernández**, Coordinador de Bioterio Certifica, que los animales arriba descritos se encuentran en buenas condiciones sanitarias \*.

\*Referencia : PR.T-CNPB-153, Procedimiento para el ingreso, Cuarentena y Control Sanitario para Animales de Experimentación.

Chorrillos, 23 de agosto del 2019  
(Fecha de atención y emisión del certificado)

**NOTA** : El Bioterio no se hace responsable por el estado de los animales, una vez que éstos egresan del mismo.

  
M.V. Arturo Rosales Fernández  
C.M.V.P. 1586

