



Universidad Nacional
SAN LUIS GONZAGA



Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional

Esta licencia permite a otras distribuir, combinar, retocar, y crear a partir de su obra de forma no comercial y, a pesar que son nuevas obras deben siempre rendir crédito y ser no comerciales, no están obligadas a licenciar sus obras derivadas bajo los mismos términos.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>



AT 2025-FFBB-088

CONSTANCIA

El que suscribe, deja constancia que se ha realizado el análisis con el software de verificación de similitud al documento cuyo título de **Informe final de tesis** es:

Actividad antidiarreica de una forma farmacéutica líquida a partir del extracto etanólico obtenido de la especie *Polylepis racemosa* Ruiz & Pav.

Presentado por:

HUARCAYA CAVERO ALEJANDRO IVAN

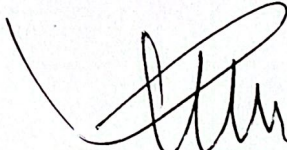
Bachiller del nivel **PREGRADO** de la Facultad de **FARMACIA Y BIOQUÍMICA**. El resultado obtenido es **1%** por el cual se otorga el calificativo de:

APROBADO, según Reglamento de Evaluación de la Originalidad.

Con Código de Matricula: 20174624

Se adjunta al presente el reporte de evaluación con el software de verificación de originalidad.

Ica, 29 de setiembre de 2025


.....
Dr. PEÑA GALINDO JULIO JOSE
DIRECTOR DE LA UNIDAD DE INVESTIGACION
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



PGJJ/hadp

UNIVERSIDAD NACIONAL "SAN LUIS GONZAGA"

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN

Facultad de Farmacia y Bioquímica



Actividad antidiarreica de una forma farmacéutica líquida a partir del extracto etanólico obtenido de la especie *Polylepis racemosa* Ruiz & Pav.

Línea de investigación
Salud Pública y Conservación del Medio Ambiente

INFORME FINAL DE TESIS

Bach. HUARCAYA CAVERO ALEJANDRO IVAN

Ica, Perú

2025

DEDICATORIA

A Dios, por haberme guiado y acompañado hasta mi etapa actual como profesional y por seguir aprendiendo de ello.

A mis dos abuelos, Adriano Huarcaya y Marcelino Cavero que ya no están en vida, por siempre haberme educado desde que era un bebé hasta mi adolescencia y por haber confiado en que podría hacer grandes proyectos.

A mi madre, Maleni Cavero, por siempre apoyarme en cada aspiración que me proponga.

A mi padre, Ivan Huarcaya, por sus enseñanzas sobre la resiliencia para alcanzar mis metas.

A mi abuela, por cada palabra de aliento y apoyo durante este proceso.

A mis amistades y familiares que se fueron sumando en esta aventura, por cada granito que aportaron.

AGRADECIMIENTO

La suma de cada aporte permitió obtener resultados positivos en esta investigación.

Cordialmente me expreso a mis asesoras, la **Dra. María Dolores Rocío Bendezú Acevedo** y **Mg. Carmela Betty Ferreyra Paredes** quienes son excelentes profesionales y modelos para seguir tanto en el ámbito personal como profesional. Cada consejo y enseñanza brindada con paciencia durante cada etapa de la investigación ha sido fundamental para fortalecer mis competencias como profesional. Me mostraron que el único límite está en nosotros mismos.

Al **Dr. Q.F. Jorge Antonio García Ceccarelli**, por sus enseñanzas en la investigación, consejos durante mi desarrollo profesional y confianza para realizar los distintos procesos en el laboratorio.

A la **Dra. Q.F. Santos Haydee Chávez Orellana**, por sus enseñanzas y apoyo incondicional en cada etapa de la investigación y desarrollo profesional.

Al **Dr. Q.F. Felipe Surco Artemio Laos**, por su apoyo profesional y por facilitar cada recurso disponible durante el desarrollo de la tesis.

Un gratificante agradecimiento a la **Asociación Científica de Investigación Farmacéutica (ACIF)**, que cada experiencia sumada y aprendizajes compartidos durante mi etapa universitaria y posterior a ella me siguen formando profesionalmente, lo cual se demuestra en los distintos proyectos académicos que nos trazamos.

A la universidad “San Luis Gonzaga” por recibirnos con las puertas abiertas, brindarnos conocimientos y formar profesionales competentes para las demandas diarias.

El autor

ÍNDICE

Carátula	I
Dedicatoria	II
Agradecimiento	III
Índice.....	IV
Índice de tablas	V
Índice de figuras.....	VI
Resumen.....	VII
Abstract	VII
I. Introducción.....	9
1.1 Descripción de la realidad problemática.....	10
1.2 Antecedentes de la investigación.....	10
1.3 Justificación e importancia	12
1.5 Marco Teórico	14
II. Estrategia metodológica.....	25
2.1 Tipo, nivel y diseño de investigación	25
2.2 Lugar de investigación.....	25
2.3 Materiales de trabajo.....	25
2.4 Hipótesis y variables.....	26
2.5 Población y muestra.....	28
2.6 Métodos, técnicas y procedimiento para la recolección de datos	28
2.7 Técnicas de análisis e interpretación de resultados:	43
2.8 Aspectos éticos	43
III. Resultados.....	44
IV. Discusión.	54
V. Conclusiones.....	56
VI. Recomendaciones	57
VII. Referencias bibliográficas.....	58
VIII. Anexos.....	66

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Solventes utilizados.	38
Tabla 2. Clasificación de solubilidad.....	38
Tabla 3 Formulación de las suspensiones.....	40
Tabla 4. Densidad del agua a distintas temperaturas	41
Tabla 5. Metabolitos secundarios presente en las fracciones del extracto etanólico de <i>Polylepis racemosa</i> Ruiz & Pav.....	44
Tabla 6. Caracterización fisicoquímica del extracto etanólico de <i>Polylepis racemosa</i> Ruiz & Pav.	45
Tabla 7. Toxicidad aguda del extracto etanólico de <i>Polylepis racemosa</i> Ruiz & Pav	46
Tabla 8. Actividad antidiarreica del extracto etanólico de <i>Polylepis racemosa</i> Ruiz & Pav. ...	46
Tabla 9. Análisis de varianza (ANOVA) de actividad antidiarreica en el extracto.....	47
Tabla 10. Análisis mediante el método de Tukey a un nivel de confianza de 95% del extracto.	48
Tabla 11. Solubilidad del extracto etanólico <i>Polylepis racemosa</i> Ruiz & Pav.	50
Tabla 12. Actividad antidiarreica del extracto etanólico de <i>Polylepis racemosa</i> Ruiz & Pav. en suspensión	50
Tabla 13. Análisis de varianza (ANOVA) de actividad antidiarreica en la suspensión oral.	51
Tabla 14. Análisis mediante el método de Tukey y una confianza de 95% en la suspensión oral.	52
Tabla 15. Características organolépticas y fisicoquímica de la suspensión oral	53
Tabla 16. Análisis microbiológico de las suspensiones orales.	53

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>Polylepis racemosa</i> Ruiz & Pav en su habitat natural.....	14
Figura 2. Mapa distribucción de la especie <i>Polylepis racemosa</i>	15
Figura 3. Características morfológicas de <i>Polylepis racemosa</i>	16
Figura 4. Mecanismos de interacción del microbiota y los probióticos con el hospedero.	20
Figura 5. Fármacos que actúan sobre el tracto gastrointestinal	22
Figura 6. Marcha Fitoquímica para identificar metabolitos secundarios	30
Figura 7. Toxicidad aguda con dosis máxima de 2000 mg/kg	35
Figura 8. Necropsia de ratón albino.....	36
Figura 9. Gráfica de IC al 95 % de los tratamientos en el extracto.	48
Figura 10. Prueba de Tukey para comparar las medias del extracto	49
Figura 11. IC al 95 % de los tratamientos con suspensión antidiarreica.	51
Figura 12. Prueba de Tukey para comparar las medias de la suspensión.....	52

RESUMEN

El **objetivo** de esta investigación fue evaluar el efecto antidiarreico de una forma farmacéutica líquida obtenida del extracto etanólico de *Polylepis racemosa* Ruiz & Pav “Queñual”. Especie procedente del distrito de Querobamba, provincia de Sucre del departamento de Ayacucho.

Métodos: El extracto etanólico se obtuvo por maceración usando alcohol de 96°. Se realizaron análisis fitoquímicos, determinación de características fisicoquímicas, evaluación de toxicidad aguda a la dosis máxima de 2000 mg/kg y evaluación de la actividad antidiarreica por el método de recorrido intestinal por **Arbot**. Posteriormente, se elaboró la forma farmacéutica líquida, la cual fue sometido a controles de calidad.

Resultados: El tamizaje fitoquímico reveló la presencia de taninos y flavonoides como principales metabolitos relacionados con la actividad antidiarreica. No se evidenció toxicidad aguda. Se comprobó su acción terapéutica a dosis de 10 mg/kg, utilizando como fármaco patrón loperamida 10 mg/kg. Además, se formularon suspensiones orales a las concentraciones de 2%, 5% y 10%, los resultados demostraron que las tres formulaciones evidenciaron presencia de actividad antidiarreica, destacando la suspensión al 10 % con un 23,6 % de inhibición, comparable a loperamida con un 17,5%. Los resultados fueron validados mediante ANOVA y prueba de Tukey. Siendo esta suspensión al 10% seleccionada para efectuar el control de calidad, los cuales estuvieron dentro de los rangos permitidos.

Conclusión: Mediante el ensayo de toxicidad aguda se determinó la ausencia de efectos tóxicos. La suspensión al 10% de extracto etanólico de *Polylepis racemosa* Ruiz & Pav mostró una eficacia antidiarreica significativa, semejante a la loperamida, confirmando su efecto potencial para el tratamiento natural contra la diarrea.

Palabras claves: *Polylepis racemosa* Ruiz & Pav, recorrido intestinal, suspensión, oral, toxicidad aguda

ABSTRACT

The **objective** of this study was to evaluate the antidiarrheal effect of a liquid pharmaceutical form obtained from the ethanolic extract of *Polylepis racemosa* Ruiz & Pav "Queñual." This species originates from the Querobamba district, Sucre province, Ayacucho department.

Methods: The ethanolic extract was obtained by maceration using 96% alcohol. Phytochemical analyses were performed, along with determination of physicochemical characteristics, acute toxicity assessment at a maximum dose of 2000 mg/kg, and antidiarrheal activity by the Arbot intestinal traversal method. The liquid pharmaceutical form was subsequently prepared and subjected to quality control.

Results: Phytochemical screening revealed the presence of tannins and flavonoids as the main metabolites associated with antidiarrheal activity. No acute toxicity was observed. Its therapeutic action was confirmed at a dose of 10 mg/kg, using loperamide as the standard drug. In addition, oral suspensions were formulated at concentrations of 2%, 5%, and 10%. The results demonstrated that all three formulations exhibited antidiarrheal activity, with the 10% suspension showing 23.6% inhibition, comparable to loperamide's 17.5%. The results were validated using ANOVA and Tukey's test. This 10% suspension was selected for quality control, and the results were within the permitted ranges.

Conclusion: The absence of toxic effects is addressed through the acute toxicity test. The 10% suspension of the ethanolic extract of *Polylepis racemosa* Ruiz & Pav showed significant antidiarrheal efficacy, comparable to that of loperamide, confirming its potential for natural diarrhea treatment.

Keywords: *Polylepis racemosa* Ruiz & Pav, intestinal tract, oral suspension, acute toxicity

I. INTRODUCCIÓN

Actualmente, las enfermedades diarreicas agudas (EDA) a pesar de la disminución de la mortalidad registradas en las últimas décadas, continúan representando un problema de salud pública, sobre todo en países en vías de desarrollo (Salud I. d., 2024). Las principales causas de estas muertes están relacionadas con la pobreza, el acceso limitado a servicios de agua y la falta de atención al saneamiento básico.

Asimismo, en el Perú, las EDA son una de las causas de morbilidad y mortalidad en menores de cinco años. Estas enfermedades pueden provocar la deshidratación y favorece a las altas tasas de desnutrición en esta edad (peruano, 2024).

En los últimos años, en nuestro país, las plantas medicinales han tenido un gran impacto en la salud pública debido a su baja incidencia de reacciones adversas y su eficacia terapéutica en el tratamiento de diversas enfermedades, sin embargo, el desconocimiento de las propiedades terapéuticas de estas plantas lleva a que se deteriore la flora y fauna sin la debida reflexión. Tal es el caso de *Polylepis racemosa* Ruiz & Pav "Queñual" perteneciente a la familia *rosaceae* que según la información recopilada su empleo popular se destaca por su madera de buena calidad y su fin medicinal para tratar enfermedades respiratorias, infecciones y estomacales.

Debido a su uso medicinal popular, el consumo de ramas de *Polylepis racemosa* Ruiz & Pav en formas de cenizas podría representar un riesgo para la salud, ya que este tipo de preparación puede concentrar compuestos tóxicos (Iturralde, 2022). Por esta razón, el objetivo de la presente investigación fue elaborar una forma farmacéutica líquida con actividad antidiarreica, que sea segura, eficaz y fácil de administración cumpliendo con los parámetros de calidad de acuerdo con la normativa.

En la búsqueda de información pudimos evidenciar que no existen suficientes estudios relacionados con las especies del género *Polylepis*, pero, las investigaciones realizadas hasta el momento han reportado actividades diuréticas, antimicrobianas y antibacterianas de esta planta. En la presente investigación, se han considerado todos los aspectos para demostrar la presencia de la actividad antidiarreica, los cuales se detallan en cada capítulo y en la metodología utilizada.

1.1 Descripción de la realidad problemática

Gracias a las diferentes medidas implementadas para el tratamiento de las enfermedades diarreicas agudas (EDA), se ha logrado reducir su incidencia en estas últimas décadas, sin embargo, no ha tenido el mismo impacto en todos los países de América Latina. (Ismael Francisco Herrera-Benavente, Andrew Comas-García, Abiel Homero Mascareñas-de los Santos, 2020). Se continúa considerando un problema de salud pública que afecta principalmente a los países en desarrollo y a todos los grupos de edad, siendo los niños menores de cinco años los más vulnerables (Elena Povea Alfonso, 2019).

La adopción de medidas para prevenir y tratar la diarrea aguda, así como el uso adecuado de medicamentos antidiarreicos y el control de infecciones, representan respuestas favorables a este problema salud pública (Salud O. P., 2011).

La madre naturaleza nos demuestra que en el Perú existen diversas plantas con propiedades terapéuticas y de bajo costo, utilizadas tradicionalmente para aliviar los distintos malestares del organismo humano. Estas plantas se consumen en diversas formas como infusiones, mates, gárgaras entre otras formas de administración (Salud M. d., 2020).

Aun así, hasta la actualidad no se conocen con totalidad los efectos terapéuticos de muchas de estas plantas, tanto de las que ya son identificadas, como las que aún son desconocidas. *Polylepis racemosa* Ruiz & Pav conocida como “queñual”, es una planta en peligro de extinción que ha sido reconocida, en diversos estudios debido a la calidad de su madera, su importancia ecológica y sus posibles actividades terapéuticas, entre ellas la antidiarreica (noticias, s.f.).

Tradicionalmente, se utiliza mediante la quema de sus ramas; una vez carbonizado, se procede a ingerirlas como tratamiento para dicha enfermedad.

Por esta razón, se desea comprobar su actividad antidiarreica y validar que su uso sea efectivo sin perjudicar la salud. Deseando brindar una nueva alternativa de tratamiento para la alta cantidad de casos de las enfermedades antidiarreicas aguda en el Perú, accesible para la población, de fácil preparación, libre de químicos, y además fomentar el cuidado y conservación de esta especie.

1.2 Antecedentes de la investigación

Se realizó una investigación bibliográfica de la especie vegetal en estudio *Polylepis racemosa* Ruiz & Pav “Queñual” en las siguientes bases de datos: PubMed, Scopus, Scielo, ScienceDirect, encontrando los siguientes antecedentes a nivel internacional y un antecedente nacional:

- Daud, *et al.* En el 2007 se realizó el estudio titulado “Actividad diurética de extractos acuosos de *Polylepis australis Bitter* (queñoa)” con el objetivo de comprobar la actividad diurética de los extractos en ratas *Wistar* por vía oral, dando como resultado que, en las dosis de 200 y 400 mg/kg demostraron una mejor actividad diurética y sal urética frente al grupo de control y a la furosemida (20 mg/kg). Dando a conocer que las hojas y corteza tendrían acción similar a diuréticos tiazídicos; garantizando su efecto antihipertensivo tal como se dice por su uso popular. (10)
- Daud, *et al.* El año 2008 se llevó a cabo la investigación “Actividad antimicrobiana de extractos alcohólicos de hojas y corteza de *Polylepis australis Bitter* (queñoa)” donde se evaluó la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de las hojas y las cortezas secas de *P. australis* frente *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* por el método de difusión en placas agar. El resultado demostró que los extractos etanólicos de la corteza presentaron menor actividad antimicrobiana a diferencia de los extractos obtenidos de las hojas, por lo cual resultó bactericida contra *S. aureus* y bacteriostático contra *P. aeruginosa*. Así mismo causó alteraciones en la permeabilidad de la membrana citoplasmática en *S. aureus*. El cultivo de *P. aeruginosa* mostró presencia de *blebs* (proteína de membrana externa) y vesículas en la membrana externa, verificado su uso popular como antimicrobiano, precisamente en las hojas a diferencia de la corteza. (11)
- Hurtado, *et al.* En el 2008 se desarrollo una investigación con el nombre de “Estudios etnobotánicos y florísticos de los bosques amenazados de *Polypys incarum* y *Polypys pacensis* (rosaceae) en Bolivia”, en donde la población que fue entrevistada mencionó que mayormente lo usan como combustible (79%), medicinal (52%) y tintóreo (24%). Se registraron 12 usos medicinales tales como las hojas se preparan como infusión para curar enfermedades respiratorias, estomacales , menstruales y dificultades durante el parto. Las flores, combinadas con otras plantas, se colocan en el oído cuando ingresa agua. Asimismo, la infusión de la corteza sirve para curar la tos, diarrea infantil y sobrepeso. (12)
- Demelash, *et al.* En el 2021 se realizó una investigación titulada “Evaluation of In Vivo Antidiarrheal Activity of Solvent Fractions of *Hagenia abyssinica* (Rosaceae) in Swiss Albino Mice” tuvieron como resultado que los extractos obtenidos a partir de diferentes disolventes como agua, acetato de etilo y cloroformo usados a dosis de 100 mg/kg, 200 mg/kg y 400 mg/kg mostraron una importante actividad antidiarreica. Las dosis de 200 mg/kg y 400 mg/kg atrasaron el tiempo de aparición

de la diarrea, la misma que fue inducida con aceite de ricino. Por lo que se confirma el uso tradicional de las hojas de *H. abyssinica* en el tratamiento de la diarrea. (13)

- Cáceda, *et al.* Se desarrollo en el 2021 una investigación titulada: “Evaluación de la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto alcohólico de las hojas de *Polylepis rugulosa* (Queñual) frente a cultivos bacterianos uropatógenos, aislados en el Hospital Hipólito Unanue- Tacna”, estudiaron la actividad frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia Coli* ATCC 25922. Se usó el método de difusión en disco (Kirby Bauer) a varias concentraciones para que se obtenga la concentración mínima inhibitoria (CMI) y el método de difusión en medio líquido para la obtención de la concentración mínima Bactericida (CMB). Como resultado, obtuvieron que, el extracto presentó actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 produciéndose un halo de inhibición de 11,22 mm a una concentración de “4,375 mg/ ml” y la cepa *Escherichia Coli* ATCC 25922 tuvo un halo de inhibición de 11, 35 mm a una concentración de “3,125 mg/mL”. (14)
- Yansheng, *et al.* En el 2022 se realizó una investigación sobre los “Componentes químicos y actividades farmacológicas de plantas medicinales del género Rosa”. En su estudio, se llevó a cabo un análisis fitoquímico que determinó que los principales metabolitos secundarios son 61 flavonoides, 83 triterpenos, 75 taninos, 10 ácidos fenólicos, 10 polisacáridos, 8 ácidos grasos, 8 ácidos orgánicos, 15 carotenos y 2 vitaminas. Resaltando que los flavonoides, triterpenos y taninos son los principales componentes de este género. Según la información recopilada, el género *Rosa* pose diversas propiedades como antineoplásica, anticancerígenas, antiinflamatorias, antioxidantes, hepatoprotectoras, reguladoras de la glucemia, antimicrobiana, antivirales, protectoras del sistema nervioso y cardiovascular. De igual manera, identificaron su potencial uso en el tratamiento de malestares como la artritis, diabetes, depresión y otras. (15)

1.3 Justificación e importancia

Actualmente, se emplean las ramas de *Polylepis racemosa* Ruiz & Pav “Queñual” para tratar enfermedades respiratorias, renales y diarreicas. Sin embargo, la forma de administración de *Polylepis racemosa* Ruiz & Pav en enfermedades diarreicas es peligrosa, ya que el procedimiento consiste en quemar las ramas de la especie y luego ingerirla (3). Por esta razón, se lleva a cabo el presente estudio sobre su actividad antidiarreica, con el objetivo de desarrollar una forma farmacéutica líquida a través del extracto etanólico, permitiendo un uso más seguro y efectivo sin perjudicar la salud de

la población. Este tratamiento está diseñado para abordar la enfermedad diarreica aguda (EDA).

En el presente, la fitoterapia es una alternativa terapéutica basada en productos naturales, lo que ha despertado el interés de la Organización Mundial de la salud (OMS) como tratamiento vinculado a la atención primaria de Salud (16). Por ello, se desea buscar una nueva opción terapéutica para abordar la alta incidencia en el Perú.

Según el Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades del Ministerio de Salud del Perú, la situación epidemiológica de EDA, reportó que en el 2024, desde la Semana Epidemiológica (SE) 14, se notificaron un total de 374 678 casos dando como resultado que, los menores de 5 años tuvieron un 33.1 % con una razón de 45,85 episodios por cada 1000 menores de 5 años y niños mayores de 5 años a más con un 66,9 %, con una razón 7,91 episodios por cada 1000 habitantes. Además, 2579 fueron hospitalizados por dicha enfermedad con una razón de 0,69 hospitalizados por cada 100 episodios. Como conclusión, se observa que los grupos mayores a 5 años hay más casos.(17)

Dado que el género *Polylepis* se encuentra en peligro de extinción, debido a diversas actividades humanas, es importante generar una reflexión para conservar y restaurar la especie en estudio (18). Esto justifica la realización de este estudio y su aporte para futuras investigaciones sobre esta especie.

1.4 Objetivos de la investigación

1.4.1 Objetivo General

- Evaluar el efecto antidiarreico de la forma farmacéutica líquida obtenida del extracto etanólico de *Polylepis racemosa* Ruiz & Pav “Queñual”.

1.4.2 Objetivo Especifico

- 1) Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de *Polylepis racemosa* Ruiz & Pav “Queñual”.
- 2) Efectuar la caracterización fisicoquímica del extracto etanólico obtenido de *Polylepis racemosa* Ruiz & Pav “Queñual”.
- 3) Establecer la toxicidad del extracto etanólico obtenido de *Polylepis racemosa* Ruiz & Pav “Queñual”.
- 4) Determinar el efecto antidiarreico del extracto etanólico obtenido de *Polylepis racemosa* Ruiz & Pav en ratones albinos.
- 5) Formular y elaborar una forma farmacéutica líquida a partir del extracto etanólico de *Polylepis racemosa* Ruiz & Pav “Queñual” con buenas características organolépticas, fisicoquímicas y microbiológicas.
- 6) Cuantificar el efecto antidiarreico de la forma farmacéutica líquida obtenida del extracto etanólico de *Polylepis racemosa* Ruiz & Pav “Queñual”.

1.5 Marco Teórico

1.5.1 Características de la especie *Polylepis racemosa* Ruiz & Pav

- Descripción botánica

Es una especie forestal que se adaptada a áreas climáticas adversas por encima de los 2.800 msnm., el árbol puede llegar a medir entre 1 a 27 metros (19). Los tallos pueden ser delgados o gruesos, hojas verdes y cortezas gruesas. Todas las características mencionadas contribuyen como protección de las bajas temperaturas (20). Su presencia en zonas altas es vital para proteger los suelos contra el proceso de erosión. Además, almacena nutrientes, sedimentos y produce una cantidad importante de oxígeno. (21)

- Ubicación Taxonómica

La muestra fue estudiada y clasificada por MSc. Wilfredo Mendoza en el herbario de la Universidad Mayor de San Marcos (UNMSM) del Museo de Historia Natural. Teniendo la siguiente categoría taxonómica, según el sistema de clasificación APG IV (2016).

ORDEN: Rosales Bercht. & J. Presl

FAMILIA: Rosaceae Juss.

GÉNERO: *Polylepis* Ruiz & Pav.

ESPECIE: *Polylepis racemosa* Ruiz & Pav.



Figura 1. *Polylepis racemosa* Ruiz & Pav Distrito de Querobamba-Sucre - Ayacucho.

- Distribución y hábitat

Se encuentran distribuido en el Perú entre los 2,800 y 4,800 m.s.n.m., en los departamentos de Áncash, Apurímac, Ayacucho, Cajamarca, Cusco, Huánuco, Junín, La Libertad, Lima y Pasco. Es importante que sea una especie muy utilizada

por los programas de reforestación en los Andes del Perú. Como consecuencia, las poblaciones silvestres (no reforestadas) se encuentran distribuidas en fragmentos en los Andes (22,19).

Sus condiciones y adaptaciones al hábitad, incluyen la capacidad de crecer en zonas frías y de gran altitud, son resistentes a las heladas, baja necesidad de suelos fértiles, textura y naturaleza variables. Asimismo, toleran la pedregosidad, lo que favorece los sistemas agroforestales sin afectar los cultivos de los pobladores.(23)

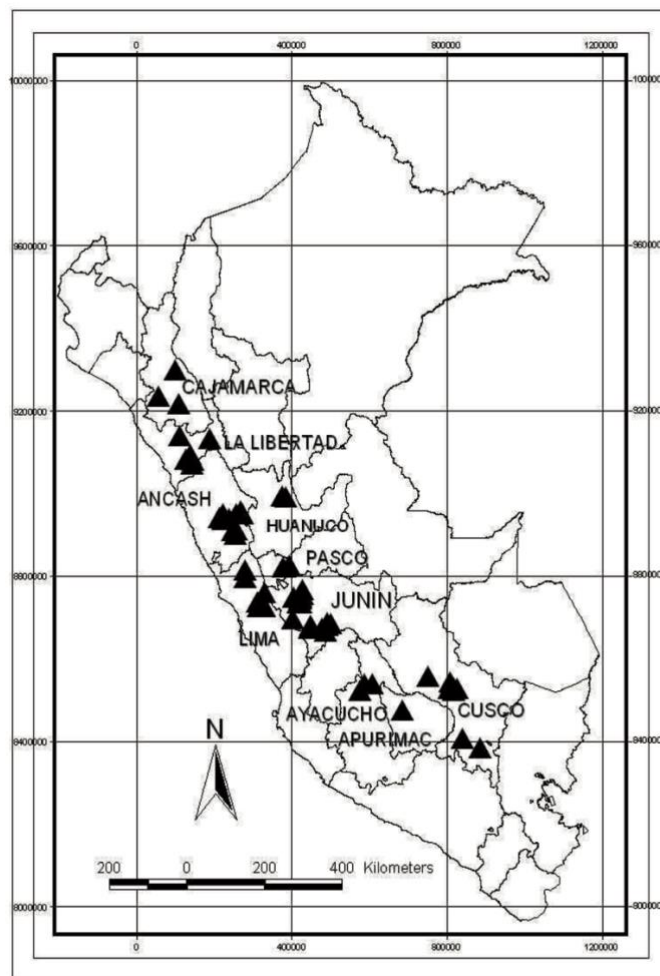


Figura 2. Mapa de distribución de las especies peruanas de *Polylepis* (altitudes y zonas ecológicas), p. 85. El género *Polylepis* en el Perú: Taxonomía, Morfología y Distribución.(24)

- Usos

Al tener una excelente calidad de madera, pesada y de durabilidad natural. Es usado para las construcciones rurales como vigas, puertas y ventanas; elaboraciones de herramientas (arado, yugos, racuanas, taclas) y artesanías.

Los pobladores también lo usan como leña al tener una gran calidad; el ardor es por tiempo prologando con un gran calor energético. También es usado como cerco contra las heladas.

Lamentablemente su uso medicinal es desconocido, pero los pobladores lo emplean en forma de infusión para tratar infecciones de las vía respiratorias (21). El carbón de la madera pulverizado se utiliza contra la diarrea y disentería (3).

- Composición química

Diversos estudios del análisis fitoquímico realizados en el género *Polylepis*. reportaron la presencia de flavonoides, taninos, quinonas, fenoles, saponinas, triterpenos y esteroides, cardenólidos; demostrando ser los posibles responsables de la actividad antidiarreica. (14, 27).

- Características morfológicas de la especie

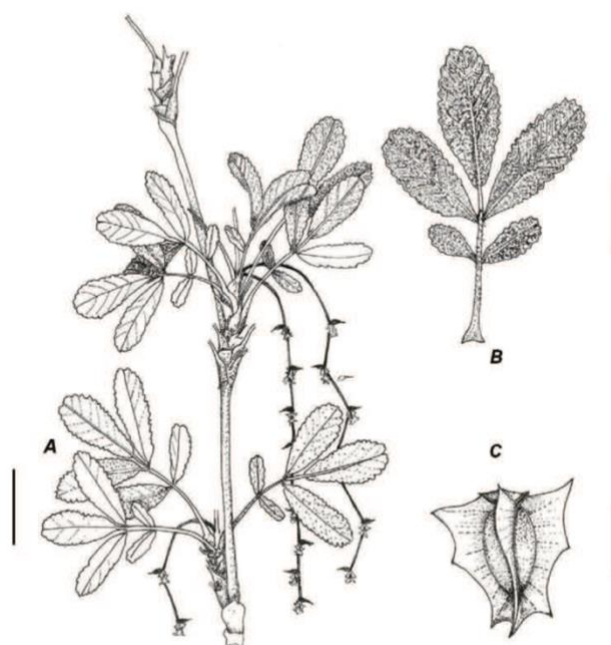


Figura 3. Características morfológicas de *polylepis racemosa* (altitudes y zonas ecológicas), p. 84. El género *Polylepis* en el Perú: Taxonomía, Morfología y Distribución.

- a) Corteza: Está formada por ritidoma o papiráceo, de color marrón, que se desprenden por capas delgadas continuas (25). Su grosor es aproximadamente de 3 cm.(26)
- b) Ramas: De igual forma que los tallos, tienden a ser encorvadas y torcidas. Originaria debido a los fríos y la sequía; también presenta trozos largos y desnudos. (19)

- c) Hojas: El género de *Polylepis* son de hojas compuestas imparipinnadas, agrupadas en cada extremo de las ramas, conformado por 1 a 3 pares de foliolos, con medidas de 3.5 a 8.8 cm de longitud y 2.3 a 5.0 cm de ancho. (19)
- d) Folíolos: La cantidad de pares de folíolos es diferente en cada una, siendo de gran importancia la cantidad de ellos para ser identificado. Son de forma elíptica, ovados 1.9-4.9 x 0.7-1.8 cm. (22)
- e) Flores: Por la polinización del viento, carecen de pétalos. A cambio, están conformado con 4 sépalos ovados que miden entre 0,9 a 1,0 cm. (19)
- f) Frutos: Están formados por una copa floral unida al ovario, son indehiscentes y contienen una sola semilla. Presentan espinas que facilitan su dispersión por medio de animales. Son de forma tuberosas, cubiertos por tricomas blandos y presentan entre 3 a 5 apéndices fóliales. (19)

1.5.2 Intestino delgado y motilidad

El intestino delgado de los seres humanos adultos llega a tener una distancia aproximadamente de 6 m y 3.5 cm de diámetro, se encuentra ubicado en el abdomen. Iniciando desde el estómago hasta el colon, el duodeno con 25 cm que no tiene mesenterio. La siguiente región es el yeyuno con 2.5 m representando el 40% del total del intestino delgado. La parte restante es el íleon. El músculo liso la pared está parcialmente contraído (tono). Este órgano tiene la mayor participación en el proceso de digestión y absorción entre el duodeno y yeyuno (28,29).

El intestino delgado cuenta con 3 tipos de movimientos:

- Segmentación rítmica: Los alimentos no se trasladan (fragmento inmóvil), manteniéndose en el mismo lugar del intestino, favoreciendo a la mezcla del contenido intestinal con los jugos gástricos.
- Peristálticos: Son ondas de contracción que esta desde el esófago, estómago e intestino. Contando con 2 tipos, lentas y rápidas. Las ondas lentas inician por un reflejo del bolo alimenticio participando el plexo de Auerbach, siendo la contracción de la porción del intestino por encima del bolo y relajación de la porción distal (reflejo mientérico). Tanto como la contracción y relajación es una sola fase, la excitación es una contracción por encima y una relajación por debajo del punto de excitación. Las ondas rápidas son más habituales y recorren más distancia cuando es mayor la actividad del intestino.
- Pendulares: Son movimientos de alargamiento y acortamiento de corto segmento, rítmicos, , del intestino, que se dan entre 10 a 20 veces por cada

minuto, sin progresar el contenido intestinal, sino contribuyendo a la mejor mezcla con los jugos gástricos y en contacto con las vellosidades intestinales. (31)

1.5.3 Diarrea

La diarrea se define como la presencia de tres o más evacuaciones inesperadas tanto líquidas como blandas, en un período de 24 horas. Se caracteriza por una alteración en la absorción normal de agua y electrolitos, dando como consecuencia una secreción anormal. (30)

1.5.4 Categorías de la diarrea

1.5.5.1 Diarrea aguda

Se caracteriza por la presencia de heces líquidas y acuosas, aumento de volumen y fluidez acompañada con aumento de deposiciones, dando como consecuencia pérdida de agua y electrolitos. También hay presencia de vómitos, fiebre, dolor abdominal. Con una duración que sea inferior a 3 semanas.

Los episodios de la enfermedad diarrea aguda (EDA) se clasifica en:

- Diarrea aguda acuosa: Es el tipo de diarrea más común, generalmente es causada por deshidratación. Se caracterizan por ser heces líquidas y abundantes, con pérdida variable de electrolitos (cloruro, sodio, potasio y bicarbonato).
- Diarrea aguda disintérica: Tiene como consecuencia la fiebre alta, heces frecuentes y con sangre visible. (32)

Fisiopatología

La diarrea ocurre cuando este mecanismo se altera, generando una disminución en la absorción de líquido y un aumento en su secreción hacia la luz intestinal. Por otro lado, en caso de infecciones, los patógenos pueden colonizar el epitelio intestinal, adhiriéndose a las células mediante la producción de citotoxinas y enterotoxinas, o invadiendo directamente la mucosa intestinal. Cuando se produce esta invasión en la mucosa se desencadena un proceso inflamatorio que daña los enterocitos, deteriora las microvellosidades y compromete las células epiteliales intestinales y la submucosa. Como consecuencia, se genera una exudación de moco, proteínas y sangre. Produciendo la alteración de la consistencia de las heces e incrementando la frecuencia de las evacuaciones. (33)

1.5.5.2 Diarrea crónica

No hay una causa única y su origen varía según la edad del paciente. Se define como el aumento en la frecuencia y volumen de las evacuaciones con una duración superior a 30 días.(34)

Las siguientes posibles causas:

- Osmóticas: Uso de laxantes a base de magnesio, fosfato y carbohidratos no absorbidos.
- Secretora: Virus, bacterias, ácidos biliares o tumores secretores.
- Inflamatoria: asociadas a infecciones como salmonella, cáncer de colon, colitis ulcerosa.
- Inducidos por fármacos.
- Ingesta excesiva de alcohol.

Fisiopatología

La mala absorción puede ser causada, como el daño en la mucosa intestinal, falla enzimática es decir insuficiencia pancreática o cáncer, mala absorción, insuficiencia exocrina pancreática, reducción de la secreción biliar, déficit del enterocito como hidrolasas, lactasa, sacarasa.

Para una correcta digestión son necesarias las secreciones biliares, enzimas del ribete de cepillo del epitelio intestinal (enterocito). Un correcto funcionamiento de la absorción depende de una mucosa intestinal íntegra y funcional. (34)

1.5.5 Tratamiento

Tratamiento coadyuvante

a) Rehidratación oral

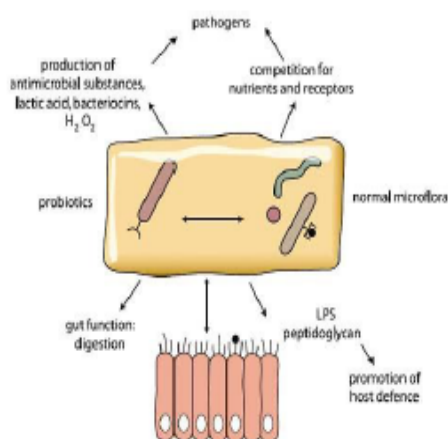
Las sales de rehidratación oral brindan agua y electrolitos para tratar los malestares asociados con la diarrea aguda. El potasio en su composición es fundamental, especialmente en los lactantes, para prevenir la hipopotasemia grave. El citrato ayuda a corregir la acidosis causada por la pérdida de bases. La glucosa es importante, ya que promueve la absorción de sodio y agua en el intestino delgado. Sin glucosa, las sales de rehidratación no funcionarían correctamente en el intestino. (7)

b) Dieta y probióticos

Una dieta correcta, independientemente de los líquidos utilizados para el mantenimiento o tratamiento de la diarrea, debe incluir ingestas diarias en pequeñas cantidades distribuidas a lo largo del día (seis colocaciones diarias). Es recomendable consumir alimentos altos en energía y micronutrientes, como granos, huevos, carnes, frutas y hortalizas.

Depende la gravedad del episodio de diarrea, puede ser necesario aumentar la ingesta energética.

Los probióticos son de múltiples beneficios para la salud humana, ya que modulan los mecanismos inmunitarios de la mucosa, interactúan con microbios comensales y microorganismos potencialmente patogénicos, dando como respuesta metabólicos como ácidos grasos de cadena corta. Además, interactúan con las células por medio de señales químicas. Se ha comprobado que los probióticos pueden actuar como antagonistas de patógenos latentes, mejorar la salud intestinal, reforzar la barrera intestinal, regular la inflamación y equilibrar la respuesta inmunitaria frente a desafíos antigénicos. Además, reduce la incidencia y gravedad de la diarrea, siendo este uno de sus usos más reconocidos. (35,36)



Pathogens Competition for nutrients and receptors LPS peptidoglycan Promotion of host defence Gut function digestion Probiotics Norma microflora Production of antimicrobial substances, lactic acid bacteriocins, H ₂ O ₂	Patógenos Competencia por nutrientes y receptores LPS peptidoglicano Promoción de la defensa del hospedero Función intestinal: digestión Probióticos Microflora normal Producción de sustancias antimicrobianas, bacteriocinas de ácido láctico, H ₂ O ₂
---	---

Figura 4. Mecanismos de interacción del microbiota y los probióticos con el hospedero, Farmacología clínica y terapéutica médica. (36)

c) zinc y vitamina A

El sulfato de zinc influye en el funcionamiento del epitelio intestinal, ayuda a regenerar los tejidos lesionados. La vitamina A, participa en el proceso de absorción de sodio y agua, así mismo en la respuesta del sistema inmunológico, mejora en la consistencia de las heces en las primeras 72 horas.

Así mismo, la vitamina A tiene la capacidad de reparar el daño en la mucosa causado por infecciones, protege la mucosa y contribuye en la absorción intestinal. Tanto el sulfato de zinc y vitamina A, tratan el episodio de diarrea. (36)

1.5.6 Tratamiento farmacológico

Los antidiarreicos tienen distintas acciones según su grupo. Actúan como protectores y absorbentes intestinales. Los de tipo musculotrópicos y anticolinérgicos son los más aptos contra los dolores cólicos, ligeramente reducen la frecuencia de las deposiciones y la pérdida de líquidos. (37)

1.5.6.1 Opiáceos

Tienen su acción activando los receptores μ , lo que disminuye la motilidad intestinal y favorece los movimientos no propulsivos. Como consecuencia, aumenta la absorción de agua y electrolitos. Además, inhiben la liberación de prostaglandinas y ejercer un efecto antisecretores. (37).

a) Loperamida

Siendo un derivado de la petidina, la loperamida tiene una acción rápida desde la primera dosis, alcanzando una concentración plasmática máxima entre 3 a 5 h, con una semivida de 11 horas. La dosis de referencia es de 4 mg y 2 mg, después por cada defecación, como máximo 16 mg por día. Sino hay mejoría al cabo de 48 horas, (38).

Su mecanismo de acción consiste en ser un agonista del receptor opioide μ en el plexo mientérico del intestino grueso, así mismo bloquea canales de calcio no selectivos. A las dosis recomendadas, no influye al sistema nervioso central como otros opioide. Su acción disminuye la actividad del plexo mientérico reduce así la motilidad de los músculos lisos circulares a lo largo del tracto intestinal. Se logra por medio de la inhibición de la liberación de acetilcolina y prostaglandina, permitiendo que el contenido permanezca por más tiempo, favoreciendo la reabsorción de agua, aumenta la consistencia y densidad de las heces. Este fármaco suprime el reflejo gastro cólico, disminuyendo el número de defecaciones, aumentando el tono del esfínter anal, lo que provoca retención fecal y disminuye los episodios de incontinencia. (39)

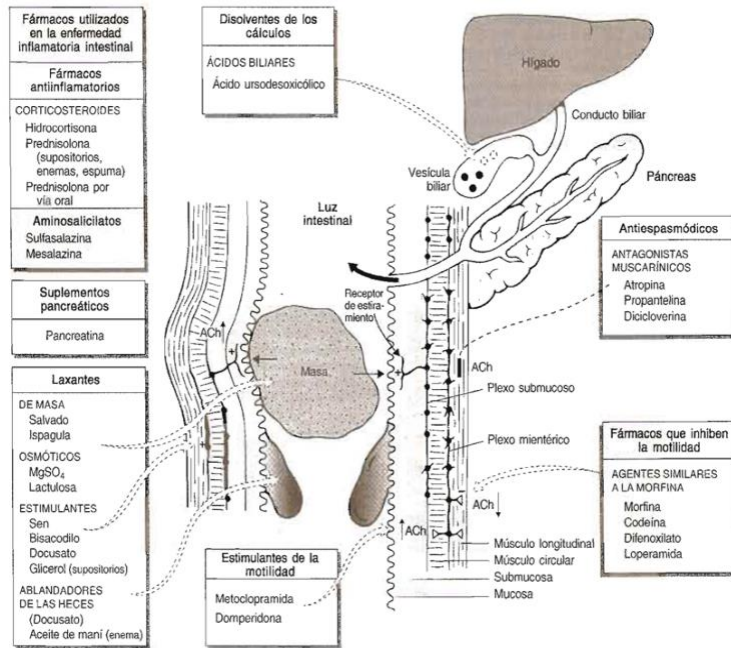


Figura 5. Fármacos que actúan sobre el tracto gastrointestinal, Farmacología médica en esquemas.(39)

1.5.7 Forma farmacéutica líquida

Según la Farmacopea Europea, las fórmulas orales líquidas pueden ser disoluciones, suspensiones o emulsiones, que están compuestas por un solo principio activo o más en un vehículo que cumpla con las características requeridas por dichos principios activos. (41)

1.5.7.1 Suspensión oral

Las suspensiones farmacéuticas constituyen sistemas heterogéneos y termodinámicamente inestables, lo cual se evidencia en la tendencia de las partículas suspendidas a sedimentar. (42)

1.5.7.2 Componentes fundamentales

a) Principio activo

Son moléculas producidas por el metabolismo de los organismos vegetales, responsables de ejercer la actividad farmacológica y de uso terapéutico. Sin embargo, algunos principios activos presentan baja solubilidad o son prácticamente insolubles. En estas situaciones, se usan cosolventes para facilitar su disolución. (43)

b) Vehículo Solvente

Son utilizados para disolver ingredientes activos y excipientes para crear soluciones, suspensiones o emulsiones. Los solventes más usados son glicerina, sorbitol, líquidos, aceites farmacéuticos entre otros. (44)

1.5.7.3 Métodos generales de preparación de la suspensión

a) De acuerdo el principio activo

Una vez realizada la caracterización de la solubilidad del principio activo, se podrá optar por disolver o emplear un agente suspensor. La baja solubilidad puede estar influenciada por factores como el pH, la temperatura, el volumen o contenido del fluido. Además, se emplean excipientes los cuales determinan la forma farmacéutica que se desea formular. (45)

b) De acuerdo con la tecnología

Mezclado mecánico es uno de los métodos más utilizados, consiste en emplear un mortero con pilón de vidrio para triturar los ingredientes hasta obtener una mezcla homogénea, lo cual permite reducir el tamaño de las partículas. Este método se prefiere especialmente cuando se deben incorporar dos sustancias con consistencia diferente, por ejemplo, una compacta y otra blanda. (47,48)

1.5.7.4 Sustancias auxiliares

a) Correctores de aroma y sabor

Tienen la capacidad de mitigar olores y sabores desagradables. Muchas fórmulas ya incluyen sabores diseñados para mejorar la aceptabilidad del producto. Sin embargo, cuando se inicia con el proceso de formulación, es necesario realizar comparaciones entre diferentes aromas y sabores para identificar cuál enmascara mejor el principio activo, determinando también las cantidades adecuadas para evitar una intensidad excesivas. (49)

b) Conservantes

Suele utilizarse para evitar la contaminación bacteriana y preservar las características del preparado durante un tiempo prolongado.

- Amplio espectro de acción.
- Estables en un rango amplio de pH y temperatura.
- Compatible con los componentes de la formulación y con el material del envase.

Los conservantes más utilizados son: ácido benzoico, benzoato sódico y parabenos. Estos actúan como inhibidores del crecimiento de contaminantes como hongos, bacterias y levaduras, con un rango amplio de pH. (41,46)

c) Control de calidad en suspensiones

Entre los principales controles de calidad en una preparación oral se encuentran las características organolépticas, como el color, sabor y olor,

el valor de pH y el control microbiológico (especialmente la ausencia de *Escherichia coli* en 1g/1mL del producto) (49,50).

d) Envasado, etiquetado y almacenamiento

Las soluciones orales pueden envasarse en recipientes de dosis única o multidosis, generalmente de vidrio ámbar. El tapón debe de garantizar la hermeticidad del cierre para evitar posibles contaminaciones o deterioro. En el caso de suspensiones, se debe de dejar un espacio adecuado para garantizar la agitación, asegurando una correcta homogenización y, por lo tanto, una dosificación precisa.

El etiquetado debe de incluir: identificación del producto, concentración (mg/mL), fecha de elaboración, condiciones de conservación, y la fecha de caducidad posterior de la elaboración del preparado farmacéuticos. Así mismo, debe indicarse la dosis correspondiente en función del volumen administrado. (49)

Por último, los jarabes medicinales deben de estar en frascos de vidrio oscuro, con una capacidad que puede variar entre 60 y 150 mL. (51)

II. ESTRATEGIA METODOLÓGICA.

2.1 Tipo, nivel y diseño de investigación (52)

2.1.1 Tipo de investigación

La investigación realizada es de tipo aplicada, ya que los resultados obtenidos serán fundamentales para la formulación y desarrollo de un producto fitoterapéutico.

2.1.2 Nivel de investigación

Por lo realizado, el estudio corresponde a un diseño experimental-transversal, ya que se manipula una variable independiente y se mide su efecto en un solo momento.

2.2 Lugar de investigación

Universidad Nacional San Luis Gonzaga, Facultad de Farmacia y Bioquímica; Laboratorios de Química General, Farmacología y Farmacotecnia e Industria Farmacéutica.

2.3 Materiales de trabajo

2.3.1 Material vegetal

- Ramas de *Polylepis racemosa* Ruiz & Pav “Queñual”

2.3.2 Materiales de laboratorio

- Probeta 10 mL, 50 mL, 100 mL
- Luna de reloj
- Crisol
- Espátula
- Termómetro
- Fiolas
- Vasos de precipitado de 50 mL, 100 mL y 1000 mL
- Frascos ámbar
- Micropipeta de 100 uL
- Micropipeta de 1000 uL
- Aro de soporte
- Regla
- Lupa

2.3.3 Equipos de laboratorio

- Rotavapor
- Ultrasonido (Lab Companion)
- Balanza analítica
- Mufla (Marca: Binder)
- Desecador
- Balanza
- Equipo de maceración
- Ventilador
- pH metro
- Peras de Bromo
- goma

2.3.4 Reactivos y excipientes

- Cloruro férrico (FeCl₃)
- Limadura de magnesio
- Diclorometano
- Ácido Clorhídrico 1%
- Reactivo de Mayer
- Reactivo de Wagner
- Reactivo de Dragendorff
- Hidróxido de amonio
- Hidróxido de sodio
- Ninhidrina
- Loperamida 2 mg blíster

2.3.5 Medios de cultivo

- Caldo MacConkey
- Agar MacConkey
- Agar TBX
- Agar PDA
- Agar Plate Count
- Agar Manitol Salado

2.3.6 Otros

- Papel Kraft
- Tijera de podar
- Ratones

2.4 Hipótesis y variables

2.4.1 Hipótesis

Hipótesis general

- La forma farmacéutica líquida obtenida de l extracto etanólico de *Polylepis racemosa* Ruiz & Pav “Queñual” presenta un buen efecto antidiarreico.

Hipótesis específicas

- El extracto etanólico presenta metabolitos secundarios como taninos, posiblemente responsables de la actividad antidiarreica.
- El extracto etanólico presenta características fisicoquímicas de buena calidad, responsables de la actividad antidiarreica.
- El extracto etanólico obtenido de *Polylepis racemosa* Ruiz & Pav “Queñual” presenta bajos niveles de toxicidad en ratones.
- Presenta efecto antidiarreico el extracto etanólico de *Polylepis racemosa* Ruiz & Pav “Queñual”, en ratones albinos.
- Se puede formular y elaborar una forma farmacéutica líquida a partir del extracto etanólico obtenido de *Polylepis racemosa* Ruiz & Pav “Queñual” con buenas características organolépticas, fisicoquímicas y microbiológicas.
- La forma farmacéutica líquida obtenida del extracto etanólico de *Polylepis racemosa* Ruiz & Pav “Queñual” mostrará un buen efecto antidiarreico en ratones albinos.

2.4.2 Variables

Variable independiente	Indicador	Índice
Extracto etanólico de las ramas de <i>Polylepis racemosa</i> Ruiz & Pav.	Identificación Fitoquímica	Reacciones de coloración y precipitación
	Control Fisicoquímica	mg/ml, °Brix, pH y % p/p
	Toxicidad	Nºratones vivos
	Solubilidad	mg/ml
Forma farmacéutica líquida	Formulación	%
	Control de calidad	pH,g/ml,evaluación sensorial, presencia de microorganismos.

Variable dependiente	Indicador	Indicé
Actividad antidiarreica	Recorrido del intestino	% de T.I

2.1 Población y muestra

2.5.1 Población

La especie vegetal de *Polylepis racemosa* Ruiz & Pav. fue recolectada en su forma de planta entera, en una cantidad de 30 kg, en la provincia de Querobamba, región Ayacucho.

2.5.2 Muestra:

10 kg de las ramas de la especie *Polylepis racemosa* Ruiz & Pav.

2.2 Métodos, técnicas y procedimiento para la recolección de datos

2.6.1. Recolección y clasificación de la muestra

La muestra botánica *Polylepis racemosa* Ruiz & Pav “Queñual” fue recolectada por el autor en la provincia de Querobamba, del departamento de Ayacucho (9°59'3 S 76°00'01 O 3246 m.s.n.m.). Previa coordinación con SERFOR debido a que se trata de una especie en peligro de extinción (Anexo N°1).

La recolecta se llevó a cabo desde el inicio del día, usándose tijeras de podar y bolsas de papel Kraft para evitar posibles descomposiciones y contaminaciones. Fue llevado a los laboratorios de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional “San Luis Gonzaga”.

Se tomó cierta cantidad de la muestra y se entregó en el Museo de Historia Natural de la UNMSM donde fue clasificada taxonómicamente por un biólogo capacitado y certificado. La muestra se realizó con el Sistema de Clasificación APG IV (2016) (Anexo N°2).

2.6.2. Tratamiento de la muestra (53) (Anexo N°3)

Fue sometida a un proceso de separación donde se procedió a:

- ✓ Selección: Ya hecha la recolección, se comenzó a descartar las hojas, flores entre otras partes aéreas, conservando solo las ramas. Se seleccionaron las ramas que se encuentran en buen estado, descartando las partes dañadas, picadas o deterioradas y se colocaron en bolsas de papel Kraft, para evitar procesos de pudrición u otros factores externos.
- ✓ Limpieza: Tuvo como objetivo quitar la impureza de las ramas por medio del lavado con agua corriente, seguido de una filtración con colador para eliminar los residuos de tierra, contaminantes y otros restos que pudieran alterar los resultados.

- ✓ Secado: Se tuvo en cuenta el secado bajo sombra, con el fin de que las ramas no sufran alteraciones, se dejó bajo esas condiciones 15 días sobre hojas de papel Kraft, teniendo en cuenta que se dieron movimientos periódicos a la misma planta.
- ✓ Conservación: Para su correcto guardado se usaron bolsas de papel Kraft donde se mantuvo las ramas hasta los próximos estudios , afin de darles una mayor conservación.

2.6.3. Obtención del extracto etanólico (54) (Anexo N°4)

Se preparó el extracto etanólico empleando como solvente alcohol etílico a una concentración de 96%, mediante el método de maceración.

- a) Preparación: Se pesó 1000 g de la planta en estudio, se colocó en un recipiente y se adicionaron 5 L de alcohol etílico al 96%, para ser almacenado al abrigo de la luz.
- b) Maceración previa: Se dejó macerando durante un período de 15 días, con agitación periódica para optimizar la extracción de los metabolitos activos.
- c) Doble maceración: Tras completar los 15 días iniciales, fue filtrado y el material botánico residual se sometió nuevamente a maceración con otros 5 L de alcohol etílico, manteniendo las mismas condiciones de agitación que en la primera etapa.
- d) Operaciones unitarias complementarias: Después de los 15 días adicionales de maceración, fue filtrada en un recipiente adecuado, y luego fue llevado en un evaporador rotatorio.
- e) Secado: Por último, el extracto fue colocado en un recipiente rotulado y, se dejó secar a temperatura ambiente, completando su proceso de secado para su posterior almacenamiento y uso en futuras pruebas durante la investigación.

2.6.4. Tamizaje fitoquímico (55)

El tamizaje o screening fitoquímico constituye la base principal para investigar diversas especies botánicas, lo que permite conocer y determinar cualitativamente los principales grupos químicos presentes en la planta. La verificación e identificación es por medio de coloraciones y precipitaciones, permitiendo la evaluación rápida de reacciones sensibles y reproducibles. Este método se llevó a cabo mediante extracciones consecutivas utilizando solventes de diferentes polaridades, con el fin de obtener diversas fracciones denominadas A, B, C, D, E y F. Para el desarrollo del tamizaje se utilizó la metodología

descrita por Olga Lock, dependiendo del comportamiento del extracto se tiene ligeras modificaciones. (Anexo N°5)

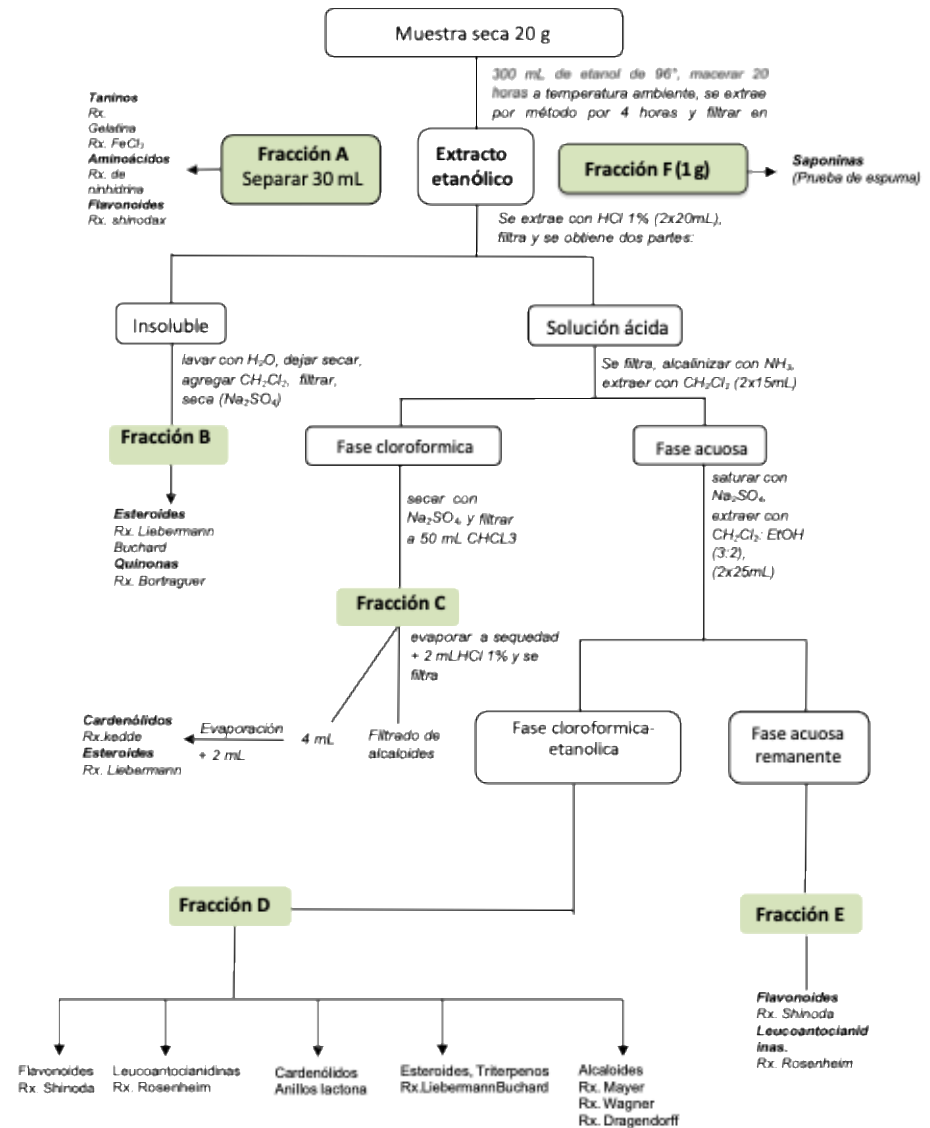


Figura 6.Marcha Fitoquímica para identificar metabolitos secundarios

1. Obtención de fracciones

Del extracto etanólico se usaron 20 g, de los cuales una porción se denominó **Fracción A**, empleada para determinar las respectivas reacciones de identificación. El extracto sobrante se extrajo con HCl al 1% y se filtró para obtener dos fases:

a) Insoluble

En este caso se equilibró el pH del extracto utilizando agua destilada. Posteriormente, se agregó 5 mL de CH₂Cl₂. La fase orgánica se deshidrató con sulfato de sodio anhidro y se filtró para eliminar el desecante y otros posibles residuos. El filtrado constituye la **Fracción B**.

b) Solución ácida

Luego de ser filtrado, se usó una solución que pueda alcalinizar y se extrae con CH₂Cl₂, con una pera de bromo, dando como respuesta dos fases:

a) Diclorometánica

Se lavó con 5 ml de agua destilada, posteriormente fue secada con sulfato de sodio anhidrido y se filtró para tener como respuesta la **Fracción C**.

b) Acuosa

Se saturó con aproximadamente con 5g de sulfato de sodio anhidro y se extrajo con diclorometano y etanol, para obtener dos fases:

• Fase orgánica

De igual forma se obtuvo la **Fracción D**, se lavó con una solución de sulfato de sodio anhidro junto con la fase acuosa y se filtra.

• Fase acuosa

Lo sobrante de la fase orgánica fue nombrado la **Fracción E**.

c) Líquida

1 g de la droga cruda fue fraccionada e incorporado en un vaso precipitado, completado con 20 ml de agua destilada. Se agitó con una bagueta hasta alcanzar el punto de ebullición. Por último, se filtró en caliente y se completó con 20 ml adicionales de agua destilada hasta que se enfrió y constituyó la **Fracción F**.

2. Determinación de grupos funcionales por fraccionamiento

a) Detección de taninos

❖ Reacción de gelatina- sal

Se usaron tres tubos de ensayos a los que se agregó 0.5 mL del extracto disuelto en agua. Al primer tubo de ensayo se le agregó 2 mL de cloruro de sodio al 5%, al siguiente 2 mL de gelatina al 1%, y al último 1 mL de cloruro de sodio al 5% y 1 mL de gelatina al 1%. La presencia de taninos se confirma cuando hay precipitación. Si solo ocurre en el tubo 2 y 3, es un falso positivo.

❖ Reacción de cloruro férrico

Se adicionó 0.5 mL del extracto diluido en alcohol 96° y una gota de solución acuosa de FeCl₃ al 1%. El resultado es positivo si presenta una coloración azul-negro, verde o verdosa.

b) Detección de aminoácidos

❖ Reacción de Ninhidrina

Se añadió con una pipeta capilar, una gota del extracto y una gota del reactivo ninhidrina al 2%. Como control se usó una solución etanólica de ninhidrina al 2%. Posteriormente, los papeles se secaron a temperatura ambiente, y se colocaron en una estufa a 110°C hasta que apareció un color en el blanco.

La reacción es positiva cuando el papel de filtro exhibe una coloración azul violáceo.

c) Detección de flavonoides

❖ Reacción de Shinoda

En una placa, se añadió 3 gotas de la fracción correspondiente ,3 limaduras de magnesio (Mg) y 2 gotas de ácido clorhídrico concentrado. La reacción es positiva cuando si aparece tonos de colores rojo, anaranjados o violeta

d) Detección de triterpenoides y/o esteroides

❖ Reacción de Liebermann- Burchard

En una placa, se añadió una cantidad de la fracción correspondiente disuelta en diclorometano. Luego, se sumó 5 gotas de anhídrido acético y 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado.

El ensayo de la reacción es positivo si se notan colores verdes o verde azulados.

e) Detección de antraquinonas

❖ Reacción de Borntrager

Se tomó una muestra del extracto disuelto en diclorometano en un tubo de ensayo que contenía 3 mL de hidróxido de sodio al 5%. El tubo de ensayo se cerró y se agitó suavemente, después se dejó reposar hasta que se distinguieron dos fases.

La reacción es positiva si la fase acuosa se vuelve de color rojo.

f) Detección de alcaloides

Se usaron 4 tubos de ensayo, se agregó la fracción correspondiente y 1 mL de una solución de ácido clorhídrico al 1%. El primer tubo fue utilizado como control.

❖ Reacción de Dragendorff

En el segundo tubo de ensayo se adiciono 3 gotas del reactivo.

Si se observa un precipitado anaranjado, si la reacción es positiva.

❖ Reacción de Mayer

En el tercer tubo de ensayo se sumó 3 gotas del reactivo.

La aparición de un precipitado blanco cremoso indica una reacción positiva.

❖ Reacción de Wagner

En el último tubo de ensayo se agregó 3 gotas del reactivo.

Si se observa un precipitado rojo indica una reacción positiva.

g) Detección de leucoantocianidinas y catequinas

❖ Reacción de Rosenheim

En un tubo de ensayo se incorporó 2 mL de la fracción correspondiente diluido en alcohol de 96°, rápidamente con 1 mL de ácido clorhídrico concentrado. Luego se calentó 100°C por 10 minutos, se enfrió y se añadieron 3 mL de agua destilada y 2 mL de alcohol amílico, por último, se agitó y se observará la fase.

La reacción es positiva si aparece un color rosa débil o carmesí oscuro. Si es rojo, indica presencia antocianidas, y si es marrón, es catequinas.

h) Detección de Saponinas (Prueba de espuma)

En dos tubos de ensayo, se agitan 2.5 mL de la **Fracción F** durante un minuto. Se deja reposar por 15 minutos y se observa la presencia de espuma. Se considera positivo si es mayor a 5 mm.

2.6.5. Caracterización Físicoquímica (56) (Anexo N°6)

Los siguientes ensayos se realizaron con la finalidad de conocer las características propias del extracto.

i) Sólidos totales: AOAC 925.3B

Llevado a cabo por el método gravimétrico, para poder realizar ello se pesó 2 g del extracto seco en una placa Petri. Iniciándose con el secado por una hora a 130°C. Luego, se colocó en un desecador y se procedió a pesar.

Se destapó la placa y se volvió a secar 130 ° ± 5°C durante una hora. Luego, se cubrió la placa con su tapa dentro de la estufa y se llevó al desecador. Por último, se pesó la muestra. Se reporta la pérdida de peso como humedad utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de solido totales} = \frac{w \text{ de la placa con residuo} - w \text{ de la placa vacía}}{w \text{ de la muestra}} \times 100$$

ii) Sólidos solubles: AOAC 932.12

Se llevó a cabo por el método refractométrico. Se añadió una solución al 10% y luego se calibró el equipo. Finalmente, se midió directamente por triplicado.

iii) Cenizas: AOAC 923.03

Se pesó 1 g de la muestra en un crisol, repitiendo el proceso por triplicado. Luego, se incineró preliminarmente a una temperatura de 550°C y se enfrió en un desecador. Luego, se incineró en la mufla a 550°C durante 4 horas, hasta que se observaron cenizas blancas. Por último, se colocó en un desecador y se pesó al alcanzar la temperatura ambiente. Se calculó el porcentaje de cenizas totales, con la fórmula correspondiente:

$$\% \text{ de cenizas} = \frac{w \text{ del crisol con ceniza} - w \text{ del crisol vacío}}{w \text{ de la muestra}} \times 100$$

iv) pH: AOAC 981.12

La medición se llevó a cabo mediante el método potenciométrico, utilizando extracto seco mezclado en agua destilada. Primero se calibró el equipo y luego se realizaron las mediciones, teniendo en cuenta la temperatura ambiente.

2.6.6. Perfil toxicológico (57) (Anexo N°7)

OECD N°423: Prueba de toxicidad oral aguda en ratones

Se utilizó la directriz 423 de la OECD para evaluar la toxicidad oral aguda. Se trabajó con ratones hembra nulíparas y no embarazadas, ya que estas características mencionadas aumentan la sensibilidad y precisión de los resultados.

i) Condiciones de los ratones

El periodo de adaptación fue de 7 días. La temperatura se mantuvo entre 20-23 °C y la humedad entre 60-70%, con un peso promedio de ± 25 g a 30 g.

Los ratones estuvieron en sus jaulas asignadas con acceso a agua y alimento según las recomendaciones alimentarias del INS (58).

ii) Administración del extracto

La administración fue por una sonda orogástrica. Los ratones estuvieron en ayuno. Se empezó con una dosis inicial de 2000 mg/kg, siendo administrado en 3 ratones y un ratón se utilizó como control que no recibió la dosis.

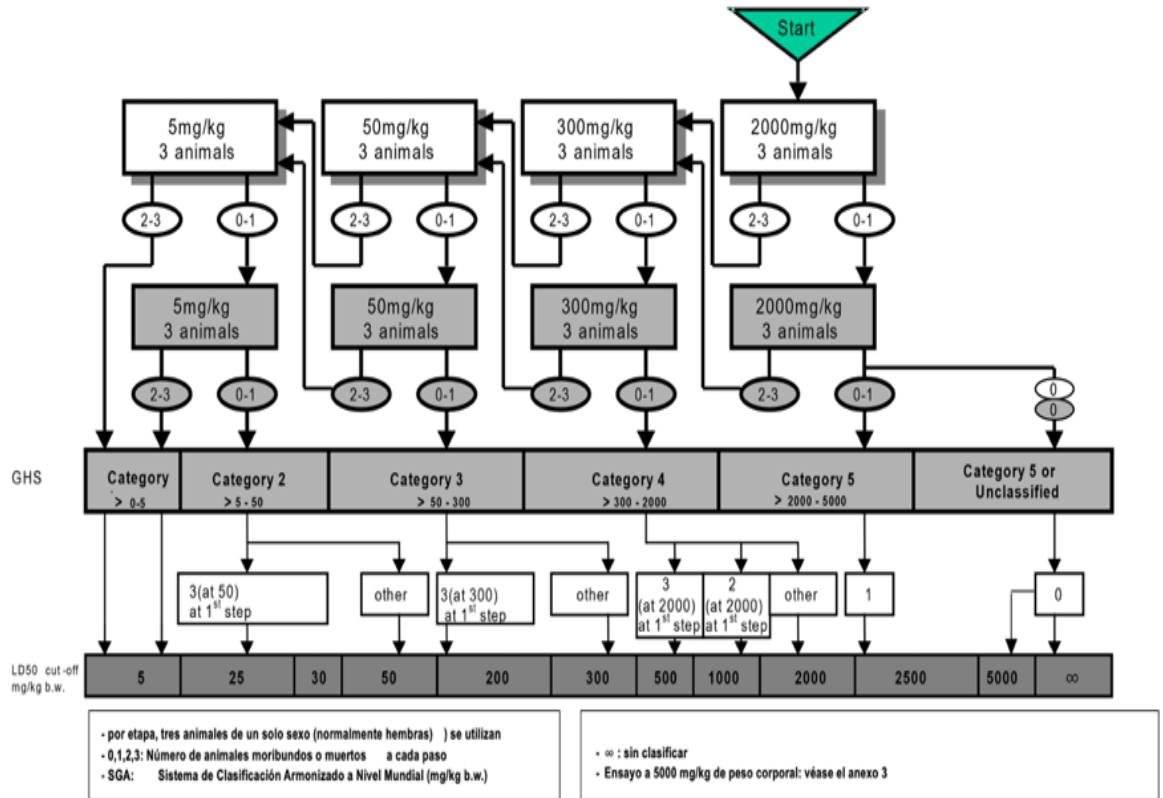


Figura 7. Toxicidad aguda con dosis máxima de 2000 mg/kg,(OECD Guideline 423) corresponde al método de toxicidad aguda oral (57).

iii) Recolección de datos

Se observarán individualmente a los 4 ratones durante los primeros 30 minutos, luego con especial atención las 4 horas. A partir de ello, una vez diariamente cada 24 horas, por un total de 14 días. Este proceso se repitió después de 14 días. Se consideró el tiempo de aparición de los signos de toxicidad, así como su muerte. Se controló el peso antes de administrar el extracto, luego al séptimo día y finalmente al décimo cuarto día. Se registraron todos los parámetros, como la actividad motora, el tono muscular, entre otros. Los resultados fueron recolectados en tablas de Screening toxicológico (Anexo N°8). Por último, se realizó una necropsia aislando órganos como el hígado, el intestino, entre otros siendo observados el color de manera macroscópica y posteriormente pesados.(59) (Anexo N°9).

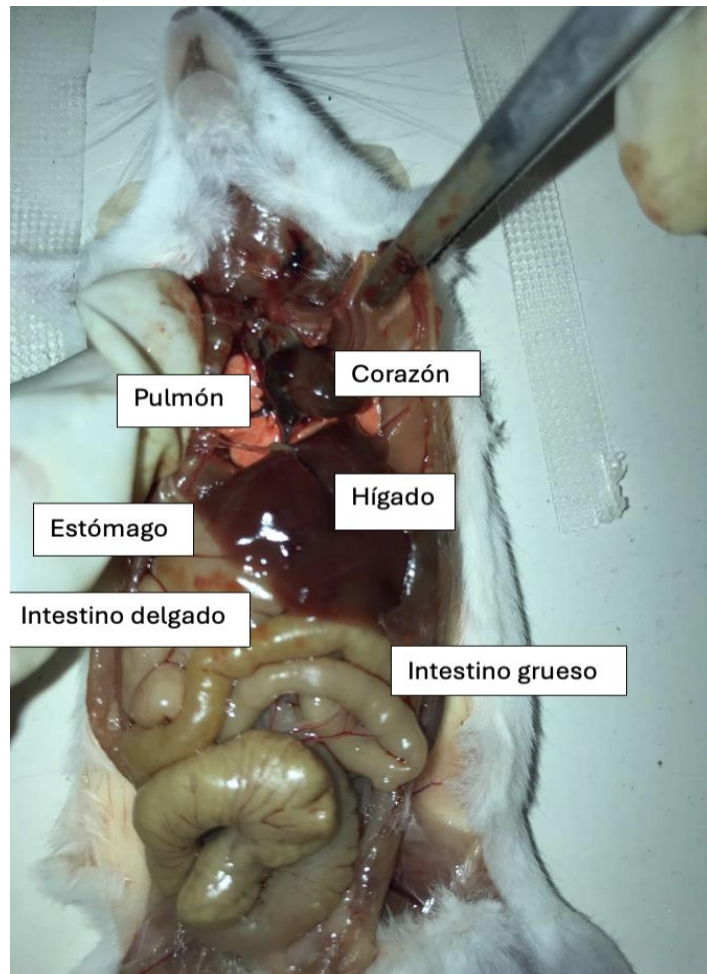


Figura 8. Necropsia de ratón albino.

2.6.7. Eficacia antidiarreica con el extracto (60)

El efecto antidiarreico se evaluó utilizando el método de Arbos *et al.* (1992) con ligeras modificaciones; con el objetivo de determinar el recorrido intestinal del extracto etanólico de *Polylepis racemosa* Ruiz & Pav.

En total, se trabajó con 25 ratones albinos de la cepa *Balb/c/CNPB*, con un peso de 25 a 30 g, procedentes del Instituto Nacional de Salud (INS) (Anexo N°10). Se conformaron grupos de 5 ratones cada uno. Antes de iniciar con el experimento, se aclimataron por una semana a condiciones controladas: temperatura de 22 ± 2 °C, humedad entre 45 a 55% y un ciclo de luz/oscuridad de 12:12 h con alimentación y agua recomendada por el INS, asegurando condiciones higiénicas adecuadas para prevenir enfermedades o contaminaciones. Todos los ratones estuvieron en ayuno antes de la evaluación, una condición importante para evitar variaciones en los resultados (Anexo N°11).

- Grupos de comparación
Como parámetro para comprobar la actividad antidiarreica, se utilizaron dos grupos control. El primer grupo correspondió al control negativo, al que se le administró el vehículo en el que fue disuelto el extracto etanólico. El siguiente grupo fue el control positivo, tratado con Loperamida a una dosis de 10 mg/Kg. Ambos tratamientos fueron administrados por vía oral mediante sonda orogástrica.
- Administración del extracto etanólico de *Polylepis racemosa* Ruiz & Pav
La evaluación de la motilidad intestinal se inició administrando desde el tercer hasta el quinto grupo el extracto en estudio, a dosis de 10 mg/kg, 20 mg/kg, 30 mg/kg respectivamente, de igual manera fue por sonda orogástrica.
- Administración de carbón activado
Trascurrido 30 minutos, a todos los grupos de ratones albinos se administró 10 mL/Kg de carbón activado al 10% por vía oral (VO)
- Medición del recorrido intestinal
Para finalizar, luego de 30 minutos, todos los animales fueron sacrificados por dislocación cervical. Posteriormente, se realizó una laparotomía para extraer el intestino delgado, desde la porción pilórica hasta el colon, y se midió la distancia recorrida por el carbón activado:
Fórmula para calcular el porcentaje de tránsito intestinal (% TI)

$$\% TI = \frac{\text{Distancia recorrida por el carbón activado en el intestino delgado}}{\text{Distancia total del intestino delgado}} \times 100$$

2.6.8. Preformulación

Esta fase del proceso de desarrollo de un medicamento tuvo como objetivo diseñar una forma farmacéutica que sea estable, segura y eficaz. Se considero para la preparación los siguientes ensayos:

a) Ensayo de solubilidad (46) (Anexo N°12)

La solubilidad es la cantidad máxima de soluto que se puede añadir a un volumen de disolvente en condiciones específicas de temperatura y presión. El extracto etanólico fue sometido a un ensayo de solubilidad con diversos solventes, con el fin de determinar la compatibilidad con ellos. La afinidad entre el extracto y el disolvente podría permitir su aplicación en formas farmacéutica líquidas.

Para la evaluación, se utilizaron 8 tubos de ensayo, a los cuales se le agregó 5 mL de diversos solventes, especificados en la tabla 2. Se pesó una porción mínima del extracto en estudio y se añadieron pequeñas cantidades al solvente hasta alcanzar el punto de saturación. Luego, se determinó la cantidad usar del extracto. Este procedimiento se realizó por triplicado para cada solvente

Los resultados se obtuvieron calculando el promedio de los valores obtenidos y aplicando la siguiente fórmula:

$$mL/g = \frac{5}{\text{promedio del peso de la muestra por solvente}}$$

Tabla 1. Solventes utilizados.

Solventes
Aceite vegetal
Propilenglicol
Alcohol 70°
Agua destilada a temperatura ambiente
Agua destilada a 70°C
Alcohol 96°
Glicerina
Vaselina líquida

Tabla 2. Clasificación de solubilidad. Extraído de United States Pharmacopeia, Test of formulation. 42a ed. NF 37. Rockville: USP; 2019 (41).

Término	Volúmenes aproximados de solvente en mililitros por gramo de sustancia
Muy soluble	Inferior a 1
Fácilmente soluble	De 1 a 10
Soluble	De 10 a 30
Moderadamente soluble	De 30 a 100
Poco soluble	De 100 a 1000
Muy poco soluble	De 1000 a 10000
Prácticamente insoluble	Más de o igual a 10000

b) Evaluación gustativo-sensorial en humanos (Tastetrials)

Este método es uno de los más empleados en la actualidad para la evaluación sensorial de formas farmacéuticas líquidas. El estudio se llevó a cabo en individuos sanos (61), cada participante apreció diversos sabores preparados para la forma farmacéutica líquida. Para obtener un resultado fiable, se usó una escala numérica desde uno "muy desagradable" hasta la máxima escala "muy agradable". (Anexo N°13)

b.1) Sabores seleccionados

Para determinar qué sabores podrían enmascarar, la sensación desagradable del extracto se evaluaron sus características organolépticas. De acuerdo a ello, se seleccionaron 6 sabores.

b.2) Evaluación gustativo-sensorial por cada participante

Antes de la prueba, los participantes debían cumplir con ciertos requisitos, como estar sanos, no haber consumido ningún alimento o bebida que pueda alterar su percepción sensorial. Cada uno de los ocho sabores evaluados se identificó mediante una nomenclatura específica, con el fin de garantizar una apreciación más objetiva.

Durante la prueba, tras la degustación de cada sabor, los participantes disponían de dos minutos para enjuagar su boca con agua y eliminar cualquier residuo que pudiera interferir con la evaluación de los sabores siguientes.

b.3) Resultados

Al finalizar la prueba, cada participante completó de manera privada una encuesta virtual, en la que calificó cada sabor utilizando la escala numérica determinada.

2.6.9. Formulación

Una suspensión oral es una forma farmacéutica líquida que constituye un sistema termodinámicamente inestable, ya que las partículas de la fase interna tienden a mezclarse y sedimentarse (47). La característica principal del extracto etanólico es su baja solubilidad, por lo que, en la etapa de la preformulación, se usaron excipientes compatibles. Se evaluaron en diferentes concentraciones: 2%, 5% y 10% del extracto etanólico de la especie *Polylepis racemosa* Ruiz & Pav(62,63).

a) Vehículo: jarabe simple

b) Envasado: El envase fue de vidrio ámbar, y el recipiente se llenó dejando espacio para facilitar la agitación.

Tabla 3 Formulación de las suspensiones

Contenido	Porcentaje
Extracto etanólico de <i>Polylepis racemosa</i> Ruiz & Pav	2%, 5% y 10%
Vehículo c.s.p.	100

2.6.10. Eficacia antidiarreica con la suspensión oral (Anexo N°15)

Se usó la metodología para medir el efecto antidiarreico en el punto 2.6.7 (60).

Concentración de la suspensión oral

Dado que existe una dosis de referencia de 10 mg/kg con presencia de actividad antidiarreica comprobada, se evaluaron tres concentraciones: 2% ,5% y 10%.

2.6.11. Control de calidad (Anexo N°16)

Una vez obtenido el producto terminado, es obligatorio cumplir con ciertos parámetros de preparación que garantice su calidad, seguridad y eficacia (64). Por ello, se consideraron las siguientes evaluaciones:

a) Características organolépticas:

Se realizó esta prueba para detectar si existían modificaciones en las características físicas de la suspensión oral tales como olor, color, sabor y aspecto. (65)

Olor: Identificado por el sentido del olfato.

Se colocó una pequeña cantidad de la suspensión en una luna reloj y se percibió directamente el contenido de la muestra.

color: Consiste en la sensación visual y su interpretación.

Se analizaron 5 mL de la suspensión oral en un tubo de ensayo para observar e identificar los colores presentes.

Sabor: Durante esta evaluación, se colocaron 3 mL de la suspensión oral en una tapa dosificadora.

El contenido fue aplicado en la cavidad bucal completamente por un minuto y eliminado por completo.

Aspecto: En un tubo de ensayo se colocaron 5 ml de la suspensión oral y se observó si el líquido era transparente, limpio o presentaba turbidez.

Las características organolépticas evaluadas fueron registrados.

b) Densidad (66):

Para determinar la densidad de la suspensión oral, se utilizó un picnómetro siguiendo el siguiente procedimiento:

- Se pesó el picnómetro con agua destilada, considerándose (M3).
- Se secó el picnómetro.
- Se pesó el picnómetro vacío (M1).
- Se llenó completamente el picnómetro con la suspensión oral..
- Por último, se pesó el picnómetro con la suspensión oral siendo (M2).

Se usó la siguiente formula:

$$D = \left(M3 - \frac{M1}{M2} - M1 \right) * D \text{ agua}$$

Tabla 4. Densidad del agua a distintas temperaturas (67)

Densidad del agua					
t°C	g/cm ³	t°C	g/cm ³	t°C	g/cm ³
16	0,9989	21	0,9980	26	0,9968
17	0,9988	22	0,9978	27	0,9965
18	0,9986	23	0,9975	28	0,9962
19	0,9984	24	0,9973	29	0,9959
20	0,9982	25	0,9970	30	0,9957

c) pH (USP) (46)

En esta evaluación se utilizó un medidor multiparamétrico de pH para determinar si es ácido o alcalino, con un rango diferencia entre pH 4 a 7 (51)

Se calibró el equipo a temperatura ambiente con los buffer de pH:4, 7 y 10.

-Se lavó el electrodo con agua destilada.

-En un vaso de precipitado, se colocó una cantidad de la suspensión oral. Se sumergió el electrodo y se midió el pH de la muestra.

d) Análisis microbiológico (USP) (46)

-El objetivo de esta prueba fue determinar la presencia o ausencia de microorganismos en la suspensión oral, se utilizaron técnicas de cultivos microbiológicos.

-Para ello, se tomó una pequeña cantidad de la muestra, la cual fue inoculada en medios de cultivo específicos. Estos medios fueron incubados a una temperatura adecuada, que cumpla con los parámetros adecuados.

-Todos los materiales fueron previamente esterilizados en autoclave a 121 °C por 20 minutos.

• *Escherichia Coli* (enterobacterias)

-Se tomó 1 mL de la muestra y se diluyó en 9 mL de solución salina fisiológica hasta obtener una dilución 10^{-1} . A partir de esta, se realizó diluciones sucesivas hasta alcanzar una dilución final de 10^{-3} .

-Se sembró 200 uL de cada dilución por triplicado, mediante el método de incorporación en medio de cultivo MacConkey.

-Se incubaron a 37°C durante 48 horas.

-Si en la superficie hay colonias de color rosado indica presencia de *Escherichia Coli*.

• Bacterias heterótrofas

-Se utilizó la misma muestra diluida previamente.

-Se sembró 200µL por triplicado, mediante el método de incorporación en medios TBX y MacConkey.

-Se incubaron a 37°C durante 48 horas.

- Levaduras y hongos filamentosos

Se utilizó la misma muestra preparada anteriormente.

Se sembraron 200 μ L por triplicado, mediante el método de siembra en los siguientes medios:

- Se incubaron las placas de PDA a 27° C durante 6 días.
- Plate Count a 30°C durante 48 h.
- Manitol Salado a 37°C durante 48 horas.

2.3 Técnicas de análisis e interpretación de resultados:

Los datos recolectados se registraron en un cuaderno de campo y se digitó la información en el programa Office 365 (Excel). Se calculó el promedio y la desviación estándar de los resultados obtenidos en cada grupo, los cuales se presentaron en tablas y gráficos. Para determinar las diferencias en los tratamientos, se utilizó la prueba estadística ANOVA con el post-test de Tukey, considerándose un nivel estadístico de ($p < 0.05$). (68)

2.4 Aspectos éticos (Anexo N°17)

Para la manipulación de animales de experimentación, se tuvo como referencia la Guía de Manejo y Cuidado de Animales de Laboratorio: ratón, emitido por el INS. (69) Asimismo, se usó la ley N° 30407, Ley de protección y bienestar animal (70), garantizado que los animales utilizados en esta investigación sufran el menor dolor y estrés posible. Se aplicaron las 3R: reemplazar (se utilizado, siempre que fuese posible, métodos o procedimientos que no implica el uso de animales vivos), reducir (se minimizó la cantidad de animales sin afectar los objetivos de la investigación, manteniendo así la precisión de los resultados) y refinamiento (se priorizó el bienestar de los animales para reducir al mínimo cualquier daño potencial o permanente).

III. RESULTADOS

3.1 Resultados Screening fitoquímico

Tabla 5. Metabolitos secundarios presente en las fracciones del extracto etanólico de *Polylepis racemosa* Ruiz & Pav.

Fracción	Metabolitos	Reacción	Resultados	Observación
A	Taninos	Rx de gelatina- sal	+	Precipitado
	Grupo Fenólico libre	Rx de cloruro Ferrico	+	Color azul-negro
	Grupo aminos libres	Rx de ninhidrina	+	Color violeta
	Flavonoides	Rx de Shinoda	+	color rojizo marrón
B	Triterpenoides y/o esteroides	Rx de Liebermann Burchard	+	color marrón verdoso
	Antraquinonas	Rx de Borntrager	+	Color marrón
	Triterpenoides y/o esteroides	Rx de Liebermann Burchard	+	color marrón verdoso
C	Alcaloides	Rx de Dragendorff	-	precipitado marrón
		Rx de Mayer	-	precipitado marrón
		Rx de Wagner	-	precipitado marrón
	Flavonoides	Rx de Shinoda	+	color rojizo marrón
	Leucoantocianidinas y catequinas	Rx de Rosenheim	+	color marrón (catequinas)
D	Triterpenoides y/o esteroides	Rx de Lieberman Burchard	+	color marrón verdoso
	Alcaloides	Rx de Dragendorff	-	precipitado marrón
		Rx de Mayer	-	precipitado marrón
		Rx de Wagner	-	precipitado marrón
E	Flavonoides	Rx de Shinoda	+	color rojizo marrón
	Leucoantocianidinas y catequinas	Rx de Rosenheim	+	color marrón (catequinas)
F	Saponinas	Espumas	-	menos de 5 mm

Leyenda: (+) Positivo; (-) Negativo.

3.2 Caracterización fisicoquímica

Tabla 6. Caracterización fisicoquímica del extracto etanólico de *Polylepis racemosa* Ruiz & Pav.

Parámetros	Resultados	Unidades
Sólidos totales	80,538%	g/100g
Sólidos solubles	4.2%	°Bx (Brix)
Cenizas	2,47%	g/100g
pH	3,28	---
Color	marrón oscuro	---
Olor	leñoso	---
Aspecto	seco	---

Se encontró un contenido de sólidos totales de 80,538%, lo que indica una alta concentración de materia seca. Los sólidos solubles fueron 4,2%, lo cual representa la fracción disuelta que solubilizan poco en agua . El contenido de cenizas fue de 2,47% lo que indica baja presencia de impurezas inorgánicas. El pH obtenido fue 3,28 valor que se debe resaltar para la estabilidad del producto y su adaptación para la administración oral.

3.3 Toxicidad aguda en ratones

Tabla 7. Toxicidad aguda del extracto etanólico de *Polylepis racemosa* Ruiz & Pav.

Grupo 1	N°	Peso corporal (g)		
		día 0	día 7	día 14
Control	1	30	33	30
Promedio de grupo de prueba limite (2000 mg/kg)	3	25	25	24

Grupo 2	N°	Peso corporal (g)		
		día 0	día 7	día 14
Control	1	30	33	30
Promedio de grupo de prueba limite (2000 mg/kg)	3	26,9	31	28

Se hizo la evaluación con la dosis límite de 2000 mg/kg, de acuerdo con el protocolo OCDE 423. Al no existir variaciones significativas en el peso corporal de los ratones y ni signos anormales. Por lo tanto, el extracto etanólico no se considera tóxico.

3.4 Actividad antidiarreica

Tabla 8. Actividad antidiarreica del extracto etanólico de *Polylepis racemosa* Ruiz & Pav.

Grupo experimental	N°	% de recorrido en el tránsito intestinal
grupo control -	4	67.4%
grupo control +	4	17.5%
extracto 10 mg/kg	4	30.5%
extracto 20 mg/kg	4	51%
extracto 30 mg/kg	4	53.3%

El extracto etanólico mostró una actividad antidiarreica moderada a una dosis de 10 mg/kg, con una inhibición del tránsito intestinal del 30,5%, superior al control

positivo (loperamida), que presentó una disminución del tránsito intestinal del 17,5%. Sin embargo, el análisis estadístico mediante ANOVA y prueba de Tukey evidenció que no hay diferencia significativa entre ambos tratamientos ($p > 0.05$), lo que afirma la presencia de la actividad antidiarreica, aunque de manera ligeramente inferior con respecto al control positivo.

Tabla 9. Análisis de varianza (ANOVA) de actividad antidiarreica en el extracto.

Factor	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
E 10 mg/kg	4	30.55	4.33	(23.72; 37.38)
E 20 mg/kg	4	51.20	4.47	(44.37; 58.03)
E 30 mg/kg	4	53.25	10.10	(46.42; 60.08)
Loperamida 10 mg/kg	4	17.50	5.47	(10.67; 24.33)
Control (-)	4	67.35	5.86	(60.52; 74.18)

Desv.Est. agrupada = 6.40474

leyenda: Factor: Tratamientos ;Número de repeticiones; Media: Promedio de las repeticiones de cada tratamiento, Desv.Est: Desviación estándar; IC de 95%: Intervalo de confianza.

El extracto etanólico, a una dosis de 10 mg/kg, mostró una mayor actividad antidiarreica, por un menor recorrido en el tránsito intestinal, con un porcentaje de inhibición de un IC del 95% de (23.72; 37.38), en comparación con el control negativo, cuyo IC del 95% de (60.52; 74.18). Estos resultados confirman la presencia de la actividad estudiada.

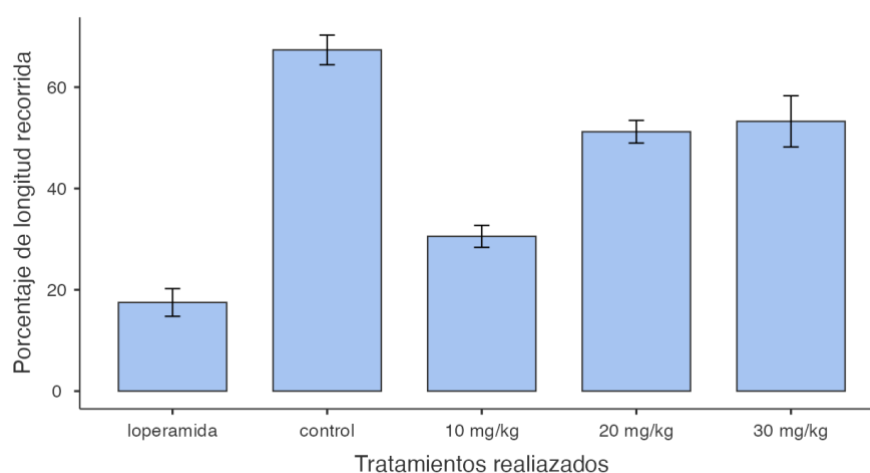


Figura 9. Gráfica de IC al 95 % de los tratamientos en el extracto.

Tabla 10. Análisis mediante el método de Tukey a un nivel de confianza de 95% para el extracto.

Factor	N	Media	Agrupación
Control (-)	4	67.35	A
E 30 mg/kg	4	53.25	B
E 20 mg/kg	4	51.20	B
E 10 mg/kg	4	30.55	C
Loperamida	4	17.50	C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Las medias del recorrido intestinal del carbón activado se compararon entre todos los grupos y dosis. Las medias que comparten una misma letra no son significativamente diferentes ($p > 0.05$). Deduciéndose que el extracto, a una dosis de 10 mg/kg, presenta actividad biológica comparable a la del grupo control positivo con la misma letra. Se respalda con la prueba de Tukey .

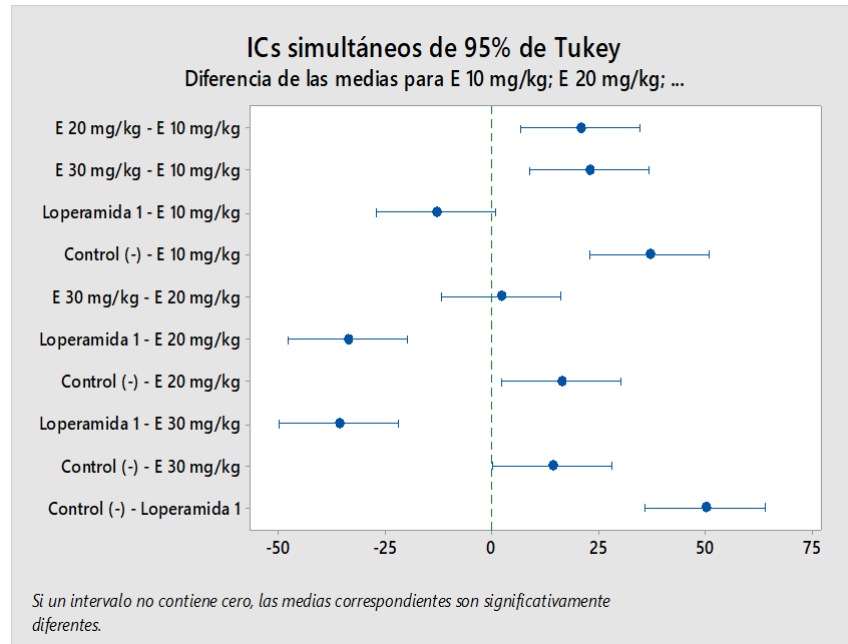


Figura 10. Prueba de Tukey para comparar las medias del extracto

En este análisis, se considera que las medias son significativamente diferentes, cuando el intervalo de confianza no contiene cero. La dosis de 10 mg/kg indica que es más activo a comparación con las demás dosis evaluadas, ya que comparten cierta semejanza con loperamida.

3.5 Ensayo de solubilidad

Tabla 11. Solubilidad del extracto etanólico *Polylepis racemosa* Ruiz & Pav.

Solventes	Extracto etanólico
Aceite vegetal	3
Propilenglicol	3
Alcohol 70°	3
Agua destilada a temp. ambiente	3
Agua destilada a 70°C	3
Alcohol 96°	4
Glicerina	4
Vaselina líquida	3

Fuente: Elaboración propia.

Leyenda: 1 (prácticamente insoluble), 2 (muy poco soluble), 3 (poco soluble), 4 (moderadamente soluble), 5 (soluble), 6 (fácilmente soluble), 7 (muy soluble).

De los ocho solventes utilizados, solo el alcohol y la glicerina se consideraron moderadamente solubles, mientras que los demás se consideraron poco solubles. Por lo tanto, los resultados obtenidos si garantizaba la elaboración de la forma farmacéutica líquida.

3.6 Actividad antidiarreica con la forma farmacéutica líquida de *Polylepis racemosa* “Queñual”.

Tabla 12. Actividad antidiarreica del extracto etanólico de *Polylepis racemosa* Ruiz & Pav. en suspensión

Grupo experimental	N°	% de recorrido en el tránsito intestinal
grupo control -	4	60,7%
grupo control +	4	17,5%
2%	4	35,9%
5%	4	33,9%
10%	4	23,6%

La suspensión al 10%, alcanzo un 23,60% de inhibición del tránsito intestinal, valor cercano al control positivo (loperamida), que presentó un recorrido del 17,5%. El análisis estadístico mediante ANOVA y la prueba de Tukey confirmaron que no hay diferencia significativa entre ambos tratamientos $p > 0.05$, indicando una similitud en la actividad antidiarreica.

Tabla 13. Análisis de varianza (ANOVA) de actividad antidiarreica en la suspensión oral.

Factor	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
loperamida 5 mg/kg	4	17.35	5.46	(10.46; 24.24)
Control (-)	4	61.22	10.62	(54.34; 68.11)
2% (10 mg/kg)	4	35.98	0.91	(29.087; 42.863)
5% (10 mg/kg)	4	33.95	3.34	(27.06; 40.84)
10% (10 mg/kg)	4	23.60	7.36	(16.71; 30.49)

Desv.Est. Agrupada=6.46289

En este cuadro, tras la administración oral de la suspensión. La concentración al 10% presentó una notable actividad antidiarreica con un IC del 95% de (16.71; 30.49). Al Compararse con el control positivo de (loperamida), mostró una mayor actividad con un IC del 95% (10.46; 24.24). Lo que indica que la formulación evaluada posee un efecto comparable al control positivo.

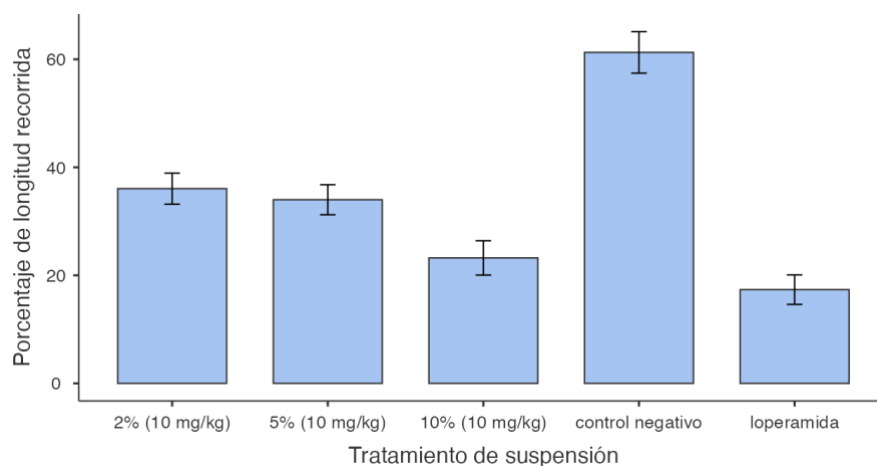


Figura 11. IC al 95 % de los tratamientos con suspensión antidiarreica.

Tabla 14. Análisis mediante el método de Tukey y una confianza de 95% en la suspensión oral.

Factor	N	Media	Agrupación
Control (-)	4	61.22	A
2% (10 mg/kg)	4	35.98	B
5% (10 mg/kg)	4	33.95	B
10% (10 mg/kg)	4	23.60	B C
loperamida 10 mg/kg	4	17.35	C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Se evaluó el recorrido intestinal del carbón activado en una suspensión oral en diferentes concentraciones, comparando con todos los grupos de ensayo. Las formulaciones al 2 %, 5% y 10 % son semejante entre sí, mientras que la del 10% comparada con el control positivo (loperamida 10 mg/kg) no presentó diferencia significativa. Confirmando el efecto farmacológico de la actividad antidiarreica con la prueba de Tukey.

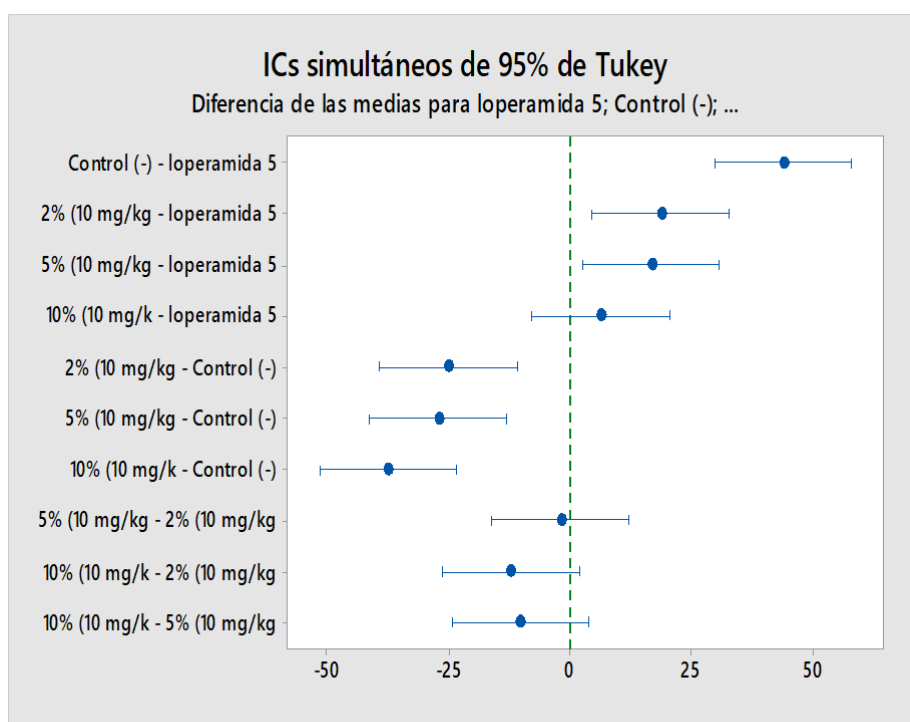


Figura 12. Prueba de Tukey para comparar las medias de la suspensión

Las tres formulaciones de 2% , 5% y 10% no mostraron diferencia entre sí. La concentración 10% presenta un efecto parcial similar a loperamida.

3.7 Control de calidad

Tabla 15.Características organolépticas y fisicoquímica de la suspensión oral

Características organolépticas /físicas	Suspensión al 5 %	Suspensión al 10 %
Color	Marrón	Marrón
Aspecto	Uniforme	Uniforme
Olor	Madera y ligeramente resinoso	Madera y ligeramente resinoso
Sabor	Menta	Menta
Densidad	1,257 g/mL	1,220 g/mL
pH	5.65	5.32

- Según la USP(46), las suspensiones orales generalmente tienen una densidad que varía entre 1.0 y 1.3 g/mL. Nuestras suspensiones, se encuentran entre los rangos aceptables. Sin embargo, este valor puede modificarse según la formulación específica y los componentes de la forma farmacéutica líquida.
- El pH de una solución oral varía según el fármaco y excipientes, sin un valor único estandarizado. Se encuentra entre 4 y 7, compatible con la estabilidad y tolerancia.

Tabla 16.Análisis microbiológico de las suspensiones orales.

Análisis microbiológico	Suspensión al 5%	Suspensión al 10%
<i>Escherichia Coli</i> (enterobacteria)	Ausente	Ausente
Heterótrofas	Ausente	Ausente
Levaduras y hongos filamentosos	Ausente	Ausente

Este control se realizó por triplicado. Los resultados microbiológicos, confirman la ausencia de crecimiento microbiano en las suspensiones al 5% y 10%, lo que indica un buen control en la producción del medicamento según la USP(46).

IV. DISCUSIÓN.

El estudio tuvo como objetivo principal evaluar el efecto antidiarreico de la forma farmacéutica líquida obtenida del extracto etanólico de *Polylepis racemosa* Ruiz & Pav. proveniente del distrito de Querobamba, provincia de Sucre, departamento de Ayacucho.

No existen investigaciones farmacológico realizadas sobre esta especie hasta la actualidad; sin embargo, sí se han desarrollado estudios en otras especies del mismo género (10). Esta investigación contribuye con el desarrollo de un producto farmacéutico, amplía la información existente para futuras investigaciones y resalta la importancia de los metabolitos presente en las siguientes fracciones (A, B, C, D, E y F) obtenidas del extracto etanólico de las ramas. En la totalidad de las fracciones se confirmó taninos, flavonoides, compuesto fenólicos libres, aminoácidos, antraquinonas, tripernoides y esteroides y catequinas tabla 5.

Sin embargo, investigaciones en otras especies del mismo género, como *Polylepis rugulosa*, Cesar *et al.* reportaron ausencia de antraquinonas y presencia de saponinas, lo cual difiere de los resultados obtenidos en el presente estudio. Esta diferencia puede ser a causa por factores ambientales con altitud, condiciones territoriales y radiación solar que influyen en la biosíntesis de metabolitos secundarios.

Se realizaron controles fisicoquímicos de sólidos totales, sólidos solubles, cenizas, pH y características organolépticas, cuyos resultados se presentan en la tabla 6. Al no existir investigaciones previas relacionadas con las características fisicoquímicas de esta especie, no fue posible realizar comparaciones directas. Por otra parte, los valores obtenidos muestra que tienen alta concentración de materia seca, baja presencia de impureza y adecuada estabilidad para administración oral. Siendo aceptables para la elaboración de una forma farmacéutica líquida.

El extracto etanólico de *Polylepis racemosa* Ruiz & Pav “Queñual” fue sometido a una evaluación de toxicidad aguda utilizando el método de la OCDE 423 (57). Se inició con una dosis de 2000 mg/kg administrado a ratones albinos. Según los resultados mostrados en la tabla 7, no se observó mortalidad en ninguna de las dosis probadas. Aunque la información disponible es limitada para establecer comparaciones, los datos obtenidos, muestra que la dosis letal media (LD₅₀) a una dosis de 2000 mg/kg o más, podría estar relacionado con la ausencia de alcaloides en el extracto etanólico de las ramas de *Polylepis Racemosa*. Químicamente, los alcaloides son metabolitos secundarios que cumplen funciones de defender contra herbívoros y patógenos; a pesar de ello la especie de *Polylepis racemos*, crecen en altas altitudes, no requiere desarrollar defensas químicas tóxicas y prioriza la síntesis de compuestos protectores frente a radiación UV. Este perfil proporciona una base útil para futuras formulaciones farmacéuticas a partir de esta especie (71).

Para evaluar el efecto antidiarreico se utilizó el método de Arbos *et al.* con ligeras modificaciones (60). Según los resultados presentados en la tabla 8, se observó actividad antidiarreica en la dosis 10 mg/kg, con un 30.5 %, valor cercano a loperamida con 17,5% como

se muestra en la Figura 9. Posiblemente debido a la presencia de metabolitos como los taninos aportan astringencia y flavonoides destacan por su capacidad antioxidante encontrados en el extracto etanólico(4). Los metabolitos secundarios responsables posiblemente inhiben la secreción y favorecen la absorción ; tambien, podrían ejercer un efecto antiinflamatorio reduciendo del estrés oxidativo y salvaguarde la función de la mucosa instestinal. La identificación de flavonoides podría inhibir la biosíntesis de la ciclooxigenasa 1 y 2 , causando la disminución en la producción de prostaglandinas . Por otra parte, los taninos podrían afectar la secreción intestinal mediante la formación de tanatos proteicos en la pared intestinal, reduciendo el peristaltismo intestinal (72).

Se formularon tres suspensiones orales al 2%, 5% y 10%, previo a ello se realizó la prueba de compatibilidad que tenían los excipientes con el extracto mostrado en la tabla 11 para tener una mayor precisión de los excipientes a usar.

Los resultados de tabla 12. muestran que las tres concentraciones de 2%,5% y 10% de las suspensiones orales presentan actividad antidiarreica, con porcentaje de 35.9%,33,9% y 23,60% respectivamente. Estos valores son inferiores a loperamida 17.5.% ,lo que demuestra la eficacia de las suspensiones orales a base del ingrediente activo (extracto etanólico), evidenciando la presencia de actividad antidiarreica en las concentraciones evaluadas. La suspensión al 10% mostró el efecto antidiarreico más significativo, como se observa en la Figura 11, todos fueron administradas a la misma dosis de 10 mg/kg. Es posible que la mayor concentración del extracto , junto con la influencia de los excipientes, potencia el efecto antidiarreico. Es decir, a mayores concentraciones, podría aumentar su efecto terapéutico.

La tabla 17. presenta las características organolépticas de las suspensiones al 5% y 10% mostrando parámetros aceptables de la suspensión oral en cuanto a color, sabores, aspecto y olor USP (46).

En la tabla 15 se observa que las dos concentraciones cumplen con los parámetros establecidos de densidad por la USP (46). Las características organolépticas de las suspensiones al 5% y 10% muestran parámetros aceptables cuanto a color, sabores, aspecto y olor. El pH de las formulaciones está dentro del rango permitido para soluciones orales, compatible con la estabilidad y tolerancia para una solución oral (51). Además, los análisis microbiológicos mostrado en la tabla 16, demuestran la ausencia de microorganismos específicos, cumpliendo con las normas establecidas por la UPS (46).

De lo anterior, se concluye que las concentraciones evaluadas presentaron resultados favorables, siendo la suspensión al 10% la más recomendable para su eficacia y facilidad de dosificación. Estos resultados servirán como base científica, aportando conocimientos valiosos sobre la composición química, bioactividad y desarrollo farmaceutico para futuras investigaciones y el desarrollo de nuevas aplicaciones terapéuticas a partir de esta planta.

V. CONCLUSIONES

- 1) Los metabolitos identificados en el screening fitoquímico del extracto etanólico de *Polylepis racemosa* Ruiz & Pav “Queñual” evidenciaron, en la mayoría de fracciones, la presencia de taninos, flavonoides, compuestos fenólicos libres, aminoácidos, antraquinonas, tripernoides, esteroides y catequinas.
- 2) El extracto etanólico de *Polylepis racemosa* Ruiz & Pav “Queñual” cumplen con los parámetros fisicoquímicos claves para la elaboración de la forma farmacéutica oral.
- 3) El extracto etanólico de *Polylepis racemosa* Ruiz & Pav “Queñual” no presentó toxicidad aguda a la dosis de 2000 mg/kg. Asimismo, en la necropsia realizada no se observaron daños macroscópicos.
- 4) El extracto etanólico de *Polylepis racemosa* Ruiz & Pav, mostró con dosis 10 mg/kg una inhibición de la motilidad intestinal del 30,5%, indicando presencia de la actividad antidiarreica.
- 5) El control de calidad de las dos suspensiones, evaluado mediante las distintas pruebas establecidas, se mantuvo dentro de los parámetros por las normas vigentes consideradas.
- 6) Las suspensiones orales al 2%, 5% y 10% conservaron actividad antidiarreica en todas las concentraciones evaluadas. La suspensión al 10% presentó un mayor efecto, alcanzando una inhibición intestinal del 23,6%. El uso de excipientes adecuados contribuyó a potenciar dicho efecto.

VI. RECOMENDACIONES

- 1) Realizar una evaluación complementaria utilizando otros métodos de corroboración de la actividad antidiarreica.
- 2) Continuar la investigación de la actividad antidiarreica mediante el desarrollo de nuevas formulaciones farmacéuticas, en especial granulados.
- 3) Realizar estudios de estabilidad a largo plazo, con el fin de garantizar la calidad, seguridad y eficacia de la formulación farmacéutica.
- 4) Efectuar investigaciones microbiológicas para evaluar la posible inhibición de bacterias patógenas, considerando su relación directa con cuadros diarreicos.
- 5) Emplear otros tipos solventes en la obtención del extracto etanólico como alcohol de 70° y solventes acuosos, utilizando diferentes partes de la planta, a fin comprobar su efectividad
- 6) Realizar la identificación y aislamiento de los metabolitos, con el objetivo de llevar a cabo estudios estructurales que permitan determinar cuáles son los compuestos responsables de la actividad antidiarreica, mejorando así la precisión y eficacia de los resultados.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. Instituto de Métricas y Evaluación en Salud. Las enfermedades diarreicas siguen siendo una de las principales causas de muerte en niños menores de 5 años y adultos mayores de 70 años [Internet]. Seattle: IHME;[citado el 27 de abril de 2025]. Disponible en: <https://www.healthdata.org/news-events/newsroom/news-releases/diarrheal-diseases-remain-leading-killer-children-under-5-adults>
2. Ministerio de Salud, ¿Qué es la enfermedad diarreica aguda (EDA)? [Internet]. [citado el 27 de abril de 2025]. Disponible en: <https://www.gob.pe/21241-que-es-la-enfermedad-diarreica-aguda-eda>
3. Iturralde C. La Queñoa, el árbol sagrado con propiedades curativas. Centro Cultural Argentino de Montaña (CCAM) [Internet].2022[citado el 27 de abril de 2025]. Disponible en: <https://revistadigital.culturademontania.org.ar/articulo/646cc8cffc0d3efac6f6e572>
4. Trejo R. Efecto antidiarreico del extracto hidroalcohólico de las hojas de Schinus molle L. molle; Ayacucho -2014. [Tesis]. [Ayacucho]:Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2015.[citado el 27 de abril de 2025]. Disponible en: <https://repositorio.unsch.edu.pe/items/91bd099f-8074-4bb5-a63d-995e491be8e9>
5. Ismael HB, García AC, Mascareñas AH. Impacto de las enfermedades diarreicas agudas en América Latina. Justificación del establecimiento de un Comité de Enfermedades Diarreicas en SLIPE. [Internet];2020 [citado el 25 de abril de 2025].Disponible en:https://slipe.org/web/wp-content/uploads/2020/06/Impacto_de_las_enfermedades_diarreicas_agudas_en_Ame%C81rica_Latina.pdf.
6. Povea E, Hevia D.La enfermedad diarreica aguda. Rev Cubana Pediatr [Internet]. 2019 [citado el 27 de abril de 2025];91(4). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75312019000400001&lng=es&nrm=iso&tlng=es
7. Organización Panamericana de la Salud. Tratamiento de la diarrea. [Internet]. 2011 [citado el 27 de abril de 2025]. Disponible en:<https://www.enfermeriaaps.com/portal/wp-content/uploads/2011/09/Tratamiento-de-la-diarrea-OPS-20081.pdf>.
8. Ministerio de salud (MINSA). Conoce cinco plantas medicinales para aliviar problemas respiratorios y digestivos , Plataforma del Estado Peruano [Internet]. [citado el 27 de abril de 2025]. Disponible en: <https://www.gob.pe/institucion/minsa/noticias/307137-minsa-conoce-cinco-plantas-medicinales-para-aliviar-problemas-respiratorios-y-digestivos>
9. Andina. Elaborarán nueva lista de especies amenazadas de flora silvestre en Perú [Internet].Lima: Agencia Andina.[citado el 27 de abril de 2025]. Disponible en:

<https://andina.pe/INgles/noticia-elaboraran-nueva-lista-especies-amenazadas-flora-silvestre-peru-558039.aspx>

10. Daud A, Habib N, Sánchez A. Actividad diurética de extractos acuosos de *Polylepis australis* Bitter (queñoa). Rev cubana plant med [Internet].2007 [citado el 3 de abril de 2025];12(4). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962007000400007
11. Daud A, Habib N, Sánchez A. Actividad antimicrobiana de extractos alcohólicos de hojas y corteza de *Polylepis australis* Bitter (queñoa). Rev Cubana Plant Med[Internet].2008.[citado el 3 de abril de 2025];12(5). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962008000300006
12. Hurtado R, Aguilera A, Domic A, Gómez M, Liberman M. Estudios etnobotánicos y florísticos de los bosques amenazados de *Polylepis incarum* y *Polylepis pacensis* (Rosaceae) en Bolivia. Bonplandia [Internet].2018[citado el 22 de mayo de 2025];27(2):113–26.Disponible: <https://revistas.unne.edu.ar/index.php/bon/article/view/3534>
13. Kifle ZD, Kidanu BB, Tadesse TY, Belachew TF, Atnafie SA. Evaluation of In Vivo Antidiarrheal Activity of Solvent Fractions of *Hagenia abyssinica* (Rosaceae) in Swiss Albino Mice. Evid Based Complement Alternat Med [Internet]. 2021 [citado el 22 de abril de 2025]; 2021:1-9.Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33628317/>
14. Cáceda Quiroz CJ. Evaluación de la Actividad Antibacteriana “in Vitro” del extracto alcohólico de las hojas de *Polylepis rugulosa* (“queñoa”) frente a cultivos bacterianos uropatógenos aislados en el Hospital Hipólito Unanue - Tacna. Ciencia & Desarrollo [Internet].2019[citado al 3 de abril de 2024];(14):51–8.Disponible en: <https://revistas.unjbg.edu.pe/index.php/cyd/article/view/302>
15. Wang Y, Zhao Y, Liu X, Li J, Zhang J, Liu D. Chemical constituents and pharmacological activities of medicinal plants from Rosa genus. Chin Herb Med [Internet]. el 1 de abril de 2022 [citado el 27 de abril de 2025];14(2):187–209.Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1674638422000338?via%3Di>
16. Javier R, Morey R, Rivero M, Abreus. Síndrome diarreico agudo: alternativas terapéuticas desde la medicina natural y tradicional, Acute diarrheal syndrome: therapeutic alternatives from natural and traditional medicine [Internet]. Junio de 2021 [citado el 10 de abril de 2025];14(2). Disponible en <https://farmasalud2021.sld.cu/index.php/farmasalud/2021/paper/viewFile/15/18>
17. Ministerio de Salud, Boletín epidemiológico del Perú SE 14 - 2024[Internet]. Lima: Gobierno del Perú;2024. Informe Nro:33SE14 [citado el 3 de abril de 2025].Disponible en:https://www.dge.gob.pe/epipublic/uploads/boletin/boletin_202414_08_143741.pdf

18. Gobierno Regional de Ayacucho, Gerencia regional de recursos naturales y gestión del medio ambiente. Mejoramiento del servicio de la información para la gestión de la diversidad biológica (Flora y Fauna) en la región Ayacucho;2023 [Internet]. [citado el 27 de abril de 2025]. Disponible en: <https://sinia.minam.gob.pe/sites/default/files/archivos/public/docs/Monitoreo%20de%20Ecosistemas%20de%20la%20Sierra%20de%20Ayacucho%202023.pdf>
19. Lao Magin R, Zevallos Pollito PA, De la Cruz Silva H. Información preliminar de la ecología, dendrología y distribución geográfica de las especies del género *Polylepis* en el Perú. Espacio y Desarrollo [Internet].1990 [citado el 27 de abril de 2025];(2):47–62. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5339573>
20. Arroyo S, Washington G. Morfología y Fisiología de tres especies de *Polylepis* P. *microphylla* (Wedd.) Bitter, P. *racemosa* Ruiz & Pav. y P. *subsericans* J.F. Macbr. (rosaceae) en tres niveles altitudinales, en Yanacocha,Urubamba - cusco. [Internet]. [Cusco]: Universidad nacional de San Antonio Abad del Cusco; 2015 [citado el 27 de abril de 2025]. Disponible en: <https://repositorio.concytec.gob.pe/server/api/core/bitstreams/78c0b6b3-06bf-9831-88ff-9871b304e86f/content>
21. Simpson B. A Revision of the Genus *Polylepis* (*Rosaceae*: Sanguisorbeae) [Internet]. Washington D.C;1979[citado el 27 de abril de 2025]. Disponible en: <https://repository.si.edu/handle/10088/7018>
22. Huamán J. El Género *Polylepis* en Perú by biologones [Internet]. [citado el 27 de abril de 2025]. Disponible en: https://www.academia.edu/23910193/El_G%C3%A9nero_Polylepis_en_Per%C3%BA_by_biologones
23. Soto L. Propagación vegetativa de esquejes de queñual (*polylepis* sp) bajo diferentes dosis del enraizador Root-Hor en el distrito de Carampoma-Huaro-chiri· Lima [Internet]. ,Huancavelica, Universidad Nacional de Huancavelica; 2013 [citado el 27 de abril de 2025]. Disponible en: <https://apirepositorio.unh.edu.pe/server/api/core/bitstreams/64025ecf-59fd-4994-9ba0-8526ebdb2d6f/content>
24. Mendoza W, El género *Polylepis* en el Perú: *taxonomía, morfología y distribución*. Editorial Académica Española, Saarbrücken (Alemania); 2012 .
25. Saravia G. Actividad vegetativa, tasas de crecimiento y estimación de la edad de los individuos en los rodales de *Polylepis reticulata* del parque nacional Cajas [Internet]. [Ecuador]: Universidad de Cuenca; 2016 [citado el 27 de abril de 2025]. Disponible en: <https://apirepositorio.unh.edu.pe/server/api/core/bitstreams/64025ecf-59fd-4994-9ba0-8526ebdb2d6f/content>

26. Charcape J, Mostacero J. Plantas Medicinales Nativas de la Región Piura Native Medicinal Plants of the Piura Region [Internet]. Instituto regional de ciencia TYI;2010 [citado el 27 de abril de 2025].Vol. 1.p.2-143. Disponible en:https://www.researchgate.net/publication/322287490_Plantas_Medicinales_Nativas_de_la_Region_Piura_Native_Medicinal_Plants_of_the_Piura_Region
27. Smith M, Morton D. The Digestive System. 2nd ed. Edinburgh: Churchill Livingstone; 2010 [citado el 27 de abril de 2025].Disponible en: https://www.sciencedirect.com/book/9780702033674/the-digestive-system-system?_x_tr_sl=en&_x_tr_tl=es&_x_tr_hl=es&_x_tr_pto=sge
28. Barbar E. Insights into digestion and absorption of major nutrients in humans [Internet].The American Physiological Society;2010[citado el 27 de abril de 2025];34(2):44-53.Disponible en: <https://journals.physiology.org/doi/full/10.1152/advan.00094.2009>
29. Arévalo A, Arévalo D, Villarroel C, Fernandez I, Espinoza M. Enfermedad intestinal infecciosa (diarrea). Revista Médica La Paz [Internet]. 2019 [citado el 28 de abril de 2025];25(1):73–85. Disponible en: http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-89582019000100011&lng=es&nrm=iso&tlng=es
30. Hernandez E. Estudio de la actividad antidiarreica de diferentes extractos de *hemelia patens*, *alternanthera repens* y *Waltheria americana* [Internet]. [Mexico]: Universidad Nacional Autónoma de Mexico; 1996 [citado el 28 de abril de 2025]. Disponible en: <https://repositorioslatinoamericanos.uchile.cl/handle/2250/7349864>
31. Castellanoa V, Giglioia N, Pacchiottia A , Gentilea A. Manejo ambulatorio de la diarrea aguda infantil: encuesta a pediatras de un hospital pediátrico de la Ciudad de Buenos Aires [Internet]. [Argentina].2022,[citado el 28 de abril de 2025] ,120(1):46-53,Disponible en: <http://dx.doi.org/10.5546/aap.2022.46>
32. Congreso de la república .Guía de Práctica Clínica para el Diagnóstico y Tratamiento de la Enfermedad Diarreica Aguda en la Niña y Niño. Ley N°2684. (1-09-2017).
33. Díaz J, Madera M, Pérez Y, García M, León K, Torres M. Generalidades en diarrea aguda. Arch Venez Pueric Pediatr [Internet].2009[citado el 28 de abril de 2025];72(4):139–45.Disponible en :https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06492009000400007
34. Farthing M, Salam M, Lindberg G, Dite P, Khalif I, Salazar-L, et al. Acute diarrhea in adults and children: a global perspective: A global perspective. J Clin Gastroenterol [Internet].[citado el 28 de abril del 2025] 2013;47(1):12–20. Disponible en: <https://gastrolat.org/DOI/PDF/10.0716/gastrolat2013n300007.pdf>

35. Venkataraman R, Shenoy R, Ahire JJ, Neelamraju J, Madempudi RS. Effect of Bacillus coagulans Unique IS2 with Lactulose on Functional Constipation in Adults: a Double-Blind Placebo Controlled Study. Probiotics Antimicrob Proteins [Internet]. 2021 [citado el 28 de abril de 2025]; Disponible en: <https://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/probiotics-and-prebiotics-spanish-2023.pdf>
36. Lavado E. Farmacología clínica y terapéutica médica.[Internet].[citado el 28 de abril de 2025]; Disponible en: https://www.academia.edu/8927307/Farmacologia_clinica_y_terapeutica_medica_books_medicos
37. Hardman J, Limbrid L, Molinoff P, Ruddon R, Gilman A. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 12ª ed. México: McGraw-Hill Interamericana; 2012.
38. Yazbek M. Atención farmacéutica para pacientes que consumen habitualmente Loperamida. [Internet]. Buenos Aires: Universidad de Belgrano; 2021 [citado el 28 de abril de 2025]; Disponible en: <https://repositorio.ub.edu.ar/bitstream/handle/123456789/9487/Yazbek.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
39. Neal MJ. Farmacología médica en esquemas. 5ª Ed. México: El Manual Moderno; 2007.
40. Piñeiro J, Aspecto prácticos de la Farmacotécnica en un servicio de farmacia. 1º Ed Máster Line & Prodigio, S.L. 2011.
41. Fernández O, Rodríguez O, Cordovés Y. Comparación de los parámetros tecnológicos de una suspensión farmacéutica con variación en las técnicas de preparación. Revista Cubana de Farmacia [Internet]. 2002 [citado el 28 de abril de 2025]; 36(1):35–41. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152002000100005
42. Berdonces J. Principios activos y preparaciones farmacéuticas de las plantas medicinales. Natura Medicatrix: Revista médica para el estudio y difusión de las medicinas alternativas [Internet]. 1994 [citado el 28 de abril de 2025]; (37):42–8. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4989379&info=resumen&idioma=EN>
43. García R. Excipientes farmacéuticos: ¿cómo elegirlos? [Internet]. 2024. [citado el 28 de abril de 2025]. Disponible en: <https://www.quimidroga.com/2023/04/13/excipientes-farmaceuticos-como-elegirlos/>
44. Hosey C. Drug Classification and Drug Disposition Prediction [Internet]. 2017. [citado el 28 de abril de 2025]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780124095472123753>

45. Lourdes M. Formulación de Jarabe de Guayaba [Internet].2007.[citado el 28 de abril de 2025]. Disponible en:<http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/handle/123456789/1834>
46. The United States Pharmacopoeia Convention, United States Pharmacopoeia 30, Rockville. USA, 2006. Vol. 1.
47. Nuñez K, Romero T. Elaboración de una forma farmacéutica semisólida con actividad antiinflamatoria a partir del extracto etanólico de las hojas de senecio nutans schulz bipontinus "chocra"[Tesis].Ica: Universidad Nacional Gonzaga; 2015. [citado el 28 de abril de 2025]; Disponible en: <https://repositorio.unica.edu.pe/server/api/core/bitstreams/190e7934-592e-411f-9a76-991f39b171c8/content>
48. Razuc M, Natalini P, Chanampa L, González A, Calcagno A, Gallo L, et al. Tecnología farmacéutica diseño y preparación de formulaciones diseño y preparación de formulaciones [Internet]. 2019 [citado el 28 de abril de 2025]; Disponible en: https://ediuns.com.ar/wp-content/uploads/2020/08/TECNOLOGIA-FARMACEUTICA_web.pdf
49. Gonzales L Dávila P. Boletín Farmacotécnia 2021.Volumen 1: Fórmulas orales líquidas [libro de Internet].Madrid: Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria (SEFH); 2021 Disponible en: https://www.sefh.es/fichadjuntos/BOLETINFARMACOTECNIA_2021_01.pdf
50. Palomo G, Cañete Bohórquez V. Farmacotecnia.Boletín informativo. 4ºEd.Grupo de Trabajo Farmacotécnia de la Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria,2015
51. Vázquez S, González L, Dávila C, Crespo C, Vázquez S, González L, et al. Determinación del pH como criterio de calidad en la elaboración de fórmulas magistrales orales líquidas. Farmacia Hospitalaria [Internet]. 2018.[citado 28 de abril del 2025];42(6):221–7. Disponible en : <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6827672>
52. Sampieri R. Metodología de la investigación: las rutas cuantitativa, cualitativa y mixta. Ciudad de Mexico: McGraw Hill; 2018.
53. Organización Mundial de la Salud. Directrices sobre buenas prácticas agrícolas y de recolección (BPAR) de plantas medicinales. Ginebra: OMS;2003.
54. Benítez-Benítez R, Sarria-Villa RA, Gallo-Corredor JA, Pérez Pacheco NO, Álvarez Sandoval JH, Giraldo Aristizabal CI. Obtención y rendimiento del extracto etanólico de dos plantas medicinales. Revista Facultad de Ciencias Básicas.2020.[citado 24 de marzo de 2025];15(1):31–40.Disponible en : <https://revistas.umng.edu.co/index.php/rfcb/article/view/3597/3642>
55. Lock de Ugaz O. Investigación fitoquímica : métodos en el estudio de productos naturales. Ciencias PUC del Perú [Internet]. 1994.[citado el 3 de abril de 2025]; Disponible en: <https://repositorio.pucp.edu.pe/index/handle/123456789/181719>

56. Association of Analytical Communities (AOAC). Official Methods of Analysis of AOAC International (OMA) [Internet]. Rockville, MD;2023 [citado el 3 de abril de 2025]. Disponible en: <https://www.aoac.org/official-methods-of-analysis/>
57. Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD). Test No. 423: Acute Oral toxicity - Acute Toxic Class Method. Guideline for the Testing of Chemicals [Internet]. Paris; 2002. [citado el 7 de abril de 2025]. Disponible en: https://read.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-423-acute-oral-toxicity-acute-toxic-class-method_9789264071001-en
58. Ministerio de Salud, Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio: ratón [Internet].2008. [citado el 7 de abril de 2025]. Disponible en: https://bvs.minsa.gob.pe/local/INS/962_INS68.pdf
59. Bravo A. Técnica de necropsia y toma de muestras en rata y ratón. [Internet]. 2019 [citado el 7 de abril de 2025]. Disponible en: <https://www.ibader.gal/ficha/136/927/Tecnica-de-necropsia-y-toma-de-muestras-en-rata-y-raton-2019-.html>
60. Arbós J, Zegrí A, López-Soriano FJ, Argilés JM. A simple method for determining the rate of gastrointestinal transit in the rat. Arch Int Physiol Biochim Biophys [Internet].1993[citado el 8 de abril de 2025];101(2):113–5.Disponible en:<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7689354/>
61. García E, Tavares F, Sánchez F, Blanco A, Sabroso M, Torres Suárez ; Taste masking in oral solid dosage forms Title in Spanish: Enmascaramiento de sabores en formas farmacéuticas sólidas orales. An Real Acad Farm. [citado el 8 de abril de 2025] 2015;116:116–28.Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/230308924.pdf>
62. Pabón-Varela Y, González-Julio LK. Formas farmacéuticas. (Documento de docencia N° 12). Bogotá: Ediciones Universidad Cooperativa de Colombia,2017.[citado el 8 de abril de 2025]. Disponible en: <https://repository.ucc.edu.co/server/api/core/bitstreams/8399ea97-2c17-4836-a879-15602a1ebc21/content>
63. Martínez R. Tratado de Tecnología Farmacéutica. 1° Ed. Madrid: Editorial síntesis; 2017.
64. Cortez MA, Escobar RM. Elaboración de una forma farmacéutica a partir del extracto de hojas de la planta zorrilla que disminuya niveles de glucosa en sangre, planta nativa del centro cultural Uni-shu de la comuna Chuiguilpe de Santo Domingo de los Tsáchilas. [Tesis]. Ambato: Universidad Regional Autónoma de los Andes;2016[citado en el 3 de abril del 2024];Disponible en: https://rraae.cedia.edu.ec/vufind/Record/UNIANDES_2d7406fd5b7c3a8fd729ee25e393d4df?sid=5967334
65. Herrera M, Control de calidad de una solución oral antibacteriana elaborada a partir del aceite esencial de *Salvia macrophylla benth* (Salvia) [Tesis]. Universidad Católica los

- Ángeles Chimbote.2016 [citado el 3 de abril del 2024];Disponible en: https://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/20.500.13032/20297/ACEITE_ESENCIAL_GONZALES_HERRERA_MARIZA.pdf?sequence=3
66. Huamani, Densidad en líquidos: Método del Picnómetro [Internet]. Laboratorio de Fitoquímica I.[citado el 3 de abril del 2024]. Disponible en: <https://www.geocities.ws/todoeltrabajossalto/fico4.pdf>
67. QuercusLab. Método de picnómetro para determinar densidades [Internet]. [citado el 3 de abril del 2024]. Disponible en: <https://quercuslab.es/blog/metodo-del-picnometro-para-determinar-densidades/#:~:text=El%20dise%C3%B1o%20del%20picn%C3%B3metro%20permite,y%20por%20tanto%20la%20densidad>
68. Vertti J. Estadística II Ciencias Básicas [Internet]. Mexico; 2013 [citado 8 de abril de 2025] Disponible en: https://editorial.uaa.mx/docs/estadistica_2.pdf
69. Fuentes F, Mendoza R, Rosales A, Cisneros R, Instituto Nacional De Salud (Perú), Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio: ratón. Lima: Ministerio De Salud, Instituto Nacional De Salud; 2008.
70. Congreso de la República . Ley de protección y bienestar animal. LEY N° 30407. (08-01-2016).
71. Vezikov LV, Simpson M. Toxicidad de los alcaloides de plantas. [Citado el 14 de julio del 2025]. En: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; enero 2025-. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK587364/>
72. Asrie AB, Abdelwuhab M, Shewamene Z, Gelayee DA, Adinew GM, Birru EM. Actividad antidiarreica del extracto metanólico de la corteza de la raíz de Cordia africana. *J Exp Pharmacol* [Internet].2016;8:53-59. Disponible en: <https://doi.org/10.2147/JEP.S116155>

VIII. ANEXOS.

ANEXO N° 1



SERFOR

Firmado digitalmente por ARELLANO
OLANO Williams FAU 20562836927
soft
Cargo: Director
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 03.10.2024 19:17:56 -05:00

RESOLUCIÓN DIRECTORAL

Magdalena Del Mar, 03 de Octubre del 2024

RD N° D000148-2024-MIDAGRI-SERFOR-DGGSPFFS-DGSPF

VISTOS:

La carta s/n, registrada con número de expediente 2024-0034888 (2024-0043332), de fecha 24 de julio de 2024, conteniendo la solicitud de autorización con fines de investigación científica de flora silvestre, fuera de áreas naturales protegidas (ANP), presentada por el señor **ALEJANDRO IVAN HUARCAYA CAVERO**¹ (en adelante, el administrado), identificado con DNI N° 71347983, así como, el Informe Técnico N° D000041-2024-MIDAGRI-SERFOR-DGGSPFFS-DGSPF-ICV de fecha 03 de octubre de 2024, y;

CONSIDERANDO:

Que, el artículo 66° de la Constitución Política del Perú de 1993 establece que los recursos naturales, renovables y no renovables, son patrimonio de la Nación; y el Estado es soberano en su aprovechamiento;

Que, el artículo 9° de la Ley N° 26821, Ley Orgánica para el aprovechamiento sostenible de los Recursos Naturales, establece que el Estado promueve la investigación científica y tecnológica sobre la diversidad, calidad, composición, potencialidad y gestión de los recursos naturales. Promueve, asimismo, la información y el conocimiento de los recursos naturales. Para estos efectos, podrán otorgarse permisos para investigación;

Que, mediante el artículo 13° de la Ley N° 29763, Ley Forestal y de Fauna Silvestre, se creó el Servicio Nacional Forestal y de Fauna Silvestre - SERFOR, como un organismo público técnico especializado con personería jurídica de derecho público interno, como pliego presupuestal adscrito al Ministerio de Agricultura, actualmente el Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego; artículo en el que además se señala que el SERFOR es la autoridad nacional forestal y de fauna silvestre, ente rector del Sistema Nacional de Gestión Forestal y de Fauna Silvestre, constituyendo su autoridad técnica normativa a nivel nacional, encargada de dictar las normas y establecer los procedimientos relacionados a su ámbito;

Que, el artículo 137° de la precitada Ley N° 29763, Ley Forestal y de Fauna Silvestre, declara de interés nacional realizar la investigación, el desarrollo tecnológico, la mejora del conocimiento y el monitoreo del estado de conservación del patrimonio forestal y de fauna silvestre de la Nación;

Que, según lo dispuesto por el artículo 140° de la Ley en mención, señala que el SERFOR evalúa y otorga la autorización para extracción de recursos forestales y de fauna silvestre con fines de investigación científica cuando: (i) se incluye especies

¹ Tesista de la Universidad Nacional "San Luis Gonzaga".

Esta es una copia auténtica imprimible de un documento electrónico archivado en el Servicio Forestal y de Fauna Silvestre, aplicando lo dispuesto por el Art. 25 de D.S. 070-2013-PCM y la Tercera Disposición Complementaria Final del D.S. 026-2016-PCM. Su autenticidad e integridad pueden ser contrastadas a través de la siguiente dirección web: Url: <https://sgd.serfor.gob.pe/validadorDocumental/> Clave: B556Q3F



RESOLUCIÓN DIRECTORAL

investigación autorizada o que origine que no se pueda continuar con el desarrollo de la misma, corresponde al administrado solicitar por escrito ante la Dirección de Gestión Sostenible del Patrimonio Forestal del SERFOR, la renuncia a la autorización otorgada; renuncia que deberá ser solicitada dentro del plazo de vigencia de la autorización, precisándose el hecho o evento que origina la imposibilidad de ejecutar o de continuar ejecutando la investigación aprobada, debiendo además el administrado adjuntar la documentación de sustento que estime necesaria, de ser el caso.

Que, por otro lado, el artículo 100° del Reglamento para la Gestión Forestal y de Fauna Silvestre en Comunidades Nativas y Comunidades Campesinas, señala lo siguiente:

“Investigaciones científicas realizadas dentro de las tierras de comunidades campesinas y comunidades nativas

Toda investigación científica en materia forestal y de fauna silvestre a realizarse dentro de tierras de comunidades campesinas o comunidades nativas, requiere de la autorización expresa de la comunidad y autorización otorgada por la autoridad correspondiente. (...).”

Que, en adición a ello, debemos precisar que, la presente autorización no habilita el ingreso a predios privados, áreas de conservación privada (ACP), áreas de conservación regional (ACR) y títulos habilitantes en cuyos casos, deberán gestionar la autorización de ingreso correspondiente ante la autoridad o titular del área, según corresponda;

Que, en ese sentido, en caso la ejecución de la investigación comprenda el ingreso a territorios de Comunidades Campesinas o Comunidades Nativas, previamente deberá solicitarse la autorización correspondiente;

Que, en conformidad con la Ley Forestal y de Fauna Silvestre, aprobada por Ley N° 29763; el Reglamento para la Gestión Forestal, aprobado mediante Decreto Supremo N° 018-2015-MINAGRI; el Decreto Supremo N° 004-2019-JUS que aprueba el Texto Único Ordenado de la Ley N° 27444 Ley del Procedimiento Administrativo General; el literal g) del Artículo 53° del Reglamento de Organización y Funciones aprobado por Decreto Supremo N° 007-2013-MINAGRI, y su modificatoria mediante Decreto Supremo N° 014-2016-MINAGRI; la Resolución de Dirección Ejecutiva N° 060-2016-SERFOR/DE; así como, en ejercicio de la función delegada a través del artículo 1° de la Resolución de Dirección General N° D000627-2021-MIDAGRI-SERFOR-DGGSPFFS;

SE RESUELVE:

Artículo 1.- OTORGAR la autorización con fines de investigación científica de flora silvestre, fuera de áreas naturales protegidas (ANP), a favor del señor **Alejandro Ivan Huarcaya Cavero**, identificado con DNI N° 71347983, correspondiéndole el Código de Autorización N° **AUT-IFL-2024-071**; a efectos de desarrollar el proyecto titulado **Actividad antidiarreica de una forma farmacéutica líquida a partir del extracto etanólico obtenido de la especie *Polylepis racemosa* Ruiz & Pav.**; a realizarse la colecta del material biológico de flora silvestre en el distrito de Querobamba, provincia

Esta es una copia auténtica imprimible de un documento electrónico archivado en el Servicio Forestal y de Fauna Silvestre, aplicando lo dispuesto por el Art. 25 de D.S. 070-2013-PCM y la Tercera Disposición Complementaria Final del D.S. 026-2016-PCM. Su autenticidad e integridad pueden ser contrastadas a través de la siguiente dirección web: Url: <https://sgd.serfor.gob.pe/validadorDocumental/> Clave: BSS6Q3F



RESOLUCIÓN DIRECTORAL

de Sucre, departamento de Ayacucho (coordenadas referenciales UTM: Zona 18 L, 625611.83 m E - 8450518.00 m S) y los análisis y ensayos se realizarán en los laboratorios de la Universidad Nacional "San Luis Gonzaga" (departamento de Ica); cuya vigencia se contabilizará desde la fecha de emisión de la presente resolución⁵.

Artículo 2.- Autorizar la participación de las investigadoras señaladas por el administrado, conforme se detalla en la Tabla N° 1 del **Anexo 1** de la presente resolución.

Artículo 3.- El administrado se encuentra sujeto al cumplimiento de lo presentado en el plan de investigación y al plazo correspondiente a cuatro (4) meses, así como la colecta de material biológico de la especie *Polylepis racemosa* de acuerdo con lo señalado en la Tabla N° 2 del **Anexo 2**. Los análisis y pruebas de comprobación del extracto etanólico de la señalada especie se realizará en los laboratorios de la Universidad Nacional "San Luis Gonzaga". Asimismo, deberán cumplir con las obligaciones establecidas en la legislación forestal y de fauna silvestre, según lo señalado en la parte considerativa de la presente resolución.

Artículo 4.- La presentación del Informe Final, en versión digital como resultado de la autorización otorgada, se realizará de acuerdo con los términos señalados en el **Anexo 3** de la presente resolución, y deberá ser presentado dentro de los noventa (90) días calendarios posteriores a la culminación de la investigación.

Artículo 5.- La presente autorización no limita el ejercicio de las funciones y/o requisitos de las entidades, en los ámbitos en los que se realice la investigación (ARFFS, ACR, ACP y otros).

Artículo 6.- Toda modificación en el desarrollo de la investigación será comunicada al SERFOR dentro del plazo de vigencia de la presente resolución.

Artículo 7.- La presente autorización no habilita la exportación de muestras biológicas, en caso se requiera realizar esta actividad, el administrado y las investigadoras identificadas en la presente resolución, podrán gestionar el correspondiente Permiso de Exportación ante la Dirección General de Gestión Sostenible del Patrimonio Forestal y de Fauna Silvestre del SERFOR.

Artículo 8.- La contravención a las obligaciones y/o condiciones establecidas en la presente resolución conllevará a la comisión de las infracciones tipificadas en el numeral 5) del Anexo 1 del Cuadro de Infracciones y Sanciones en materia forestal, aprobado mediante Decreto Supremo N° 007-2021-MIDAGRI.

Artículo 9.- Notificar la presente resolución directoral al señor Alejandro Ivan Huarcaya Cavero; a efectos de que tome conocimiento de su contenido. Contra la presente Resolución es posible la interposición de los recursos impugnativos contemplados en el Texto Único Ordenado de la Ley N° 27444, Ley del Procedimiento Administrativo General, aprobado mediante Decreto Supremo N° 004-2019-JUS, dentro

⁵ Decreto Supremo N° 004-2019-JUS. Texto Único Ordenado de la Ley 27444 "Ley del Procedimiento Administrativo General"

Artículo 16. El acto administrativo que otorga beneficio al administrado se entiende eficaz desde la fecha de su emisión, salvo disposición diferente del mismo acto.



RESOLUCIÓN DIRECTORAL

del plazo de quince (15) días hábiles más el término de la distancia en caso corresponda, contados a partir del día siguiente de notificada la misma.

Artículo 10.- Remitir la presente resolución a la Dirección de Control de la Gestión del Patrimonio Forestal y de Fauna Silvestre y a la Dirección Forestal y de Fauna Silvestre del Gobierno Regional de Ayacucho, para su conocimiento y fines pertinentes; asimismo, la Dirección de Gestión Sostenible del Patrimonio Forestal deberá cargar la presente resolución en el Directorio de la Dirección de Información y Registro.

Artículo 11.- Disponer la publicación de la presente resolución en el portal web del SERFOR: www.gob.pe/serfor

Regístrese y comuníquese,

Documento Firmado Digitalmente

WILLIAMS ARELLANO OLANO

Director

Dirección de Gestión Sostenible del
Patrimonio Forestal

Servicio Nacional Forestal y de Fauna Silvestre - SERFOR

Esta es una copia auténtica imprimible de un documento electrónico archivado en el Servicio Forestal y de Fauna Silvestre, aplicando lo dispuesto por el Art. 25 de D.S. 070-2013-PCM y la Tercera Disposición Complementaria Final del D.S. 026-2016-PCM. Su autenticidad e integridad pueden ser contrastadas a través de la siguiente dirección web: Url: <https://sgd.serfor.gob.pe/validadorDocumental/> Clave: BSS6Q3F

ANEXO N°2



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año del Bicentenario, de la consolidación de nuestra Independencia, y de la conmemoración de las heroicas batallas de Junín y Ayacucho"

CONSTANCIA N° 079-USM-MHN-2024

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

La muestra vegetal (estéril) recibida de **Alejandro Iván Huarcaya Cavero**, Universidad Nacional San Luis Gonzaga Ica ha sido estudiada y clasificada como: *Polylepis racemosa* Ruiz & Pav. y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación APG IV (2016).

ORDEN : Rosales Bercht. & J. Presl

FAMILIA : Rosaceae Juss.

GÉNERO : *Polylepis* Ruiz & Pav.

ESPECIE : *Polylepis racemosa* Ruiz & Pav.

Nombre vulgar: "Queñual"

Procedencia: Querobamba - Ayacucho

Determinado por: MSc. Wilfredo Mendoza.

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

Lima, 10 de abril de 2024

Dra. Joaquina Albán Castillo

JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

ANEXO N°3

Polylepis racemosa Ruiz & Pav

Recolección



Secado y limpieza

Selección y fraccionamiento



ANEXO N°4
Proceso de maceración



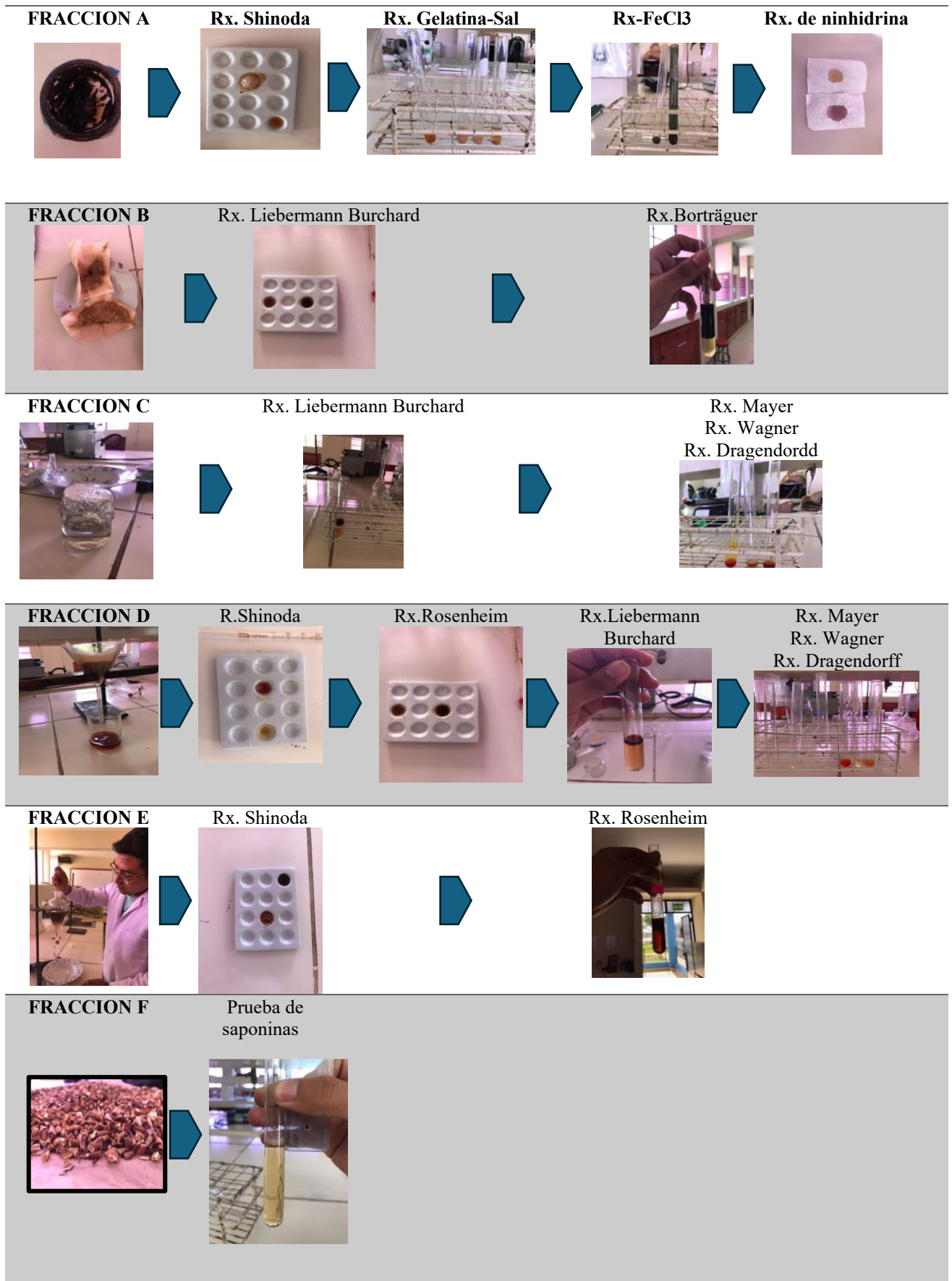
Doble maceración



Obtención de extracto



ANEXO N°5



ANEXO N°6 Sólidos totales



Peso de placas Petri



Peso del extracto



Después de la mufla



Resultados

Sólidos solubles



Extracto diluido



Muestra



Resultados

Cenizas



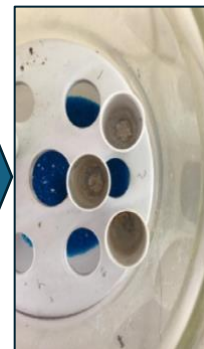
Mufla



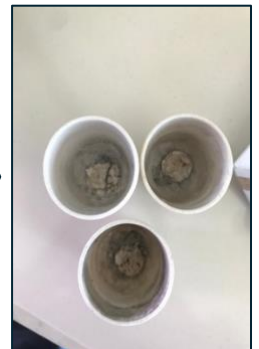
Crisoles en la mufla



Pesado de crisoles



Dsecador



Resultados

pH



Muestra de extracto



Resultados



Peso de ratones en Ayunas



Dosis de 2000 mg/kg



Administración vía oral



Control



Observación y registro



Pruebas sensoriales

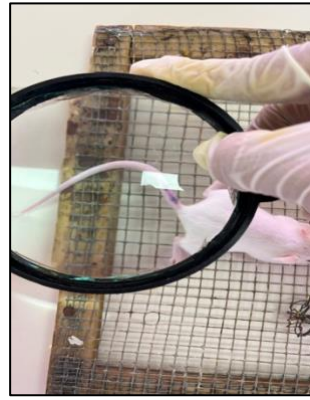
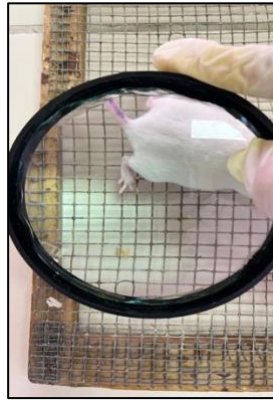
ANEXO N°8

ORGANO	LESION MACROSCÓPICA	
	control	extracto (2)
piel		
órganos		
pelos		
orejas		
cola		
uñas		
ojos		
molares		
lenguaje		
paladar		
CAVIDAD ABDOMINAL		
bazo		
hígado		
estómago		
Intestino		
Riñón		
Vejiga		
GENITALES		
Útero		
Vulva		
Vagina		
Ovario		
CUELLO Y CAVIDAD TORÁCICA		
Timo		
Pulmón		
Corazón		
Esófago		

ANEXO N°9



Selección de ratón



Observación de extremidades de cada ratón



Comparación del control y grupo administrado con el extracto



Resultado de primera evaluación durante 14 días



Observación macroscópica



Resultado de segunda evaluación durante 14 días y pesada de órganos

ANEXO N°10



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

CERTIFICADO SANITARIO N° 126-2024

Producto	: Ratón albino	Lote N°	: M – 35- 2024
Especie	: <i>Mus musculus</i>	Cantidad	: 45
Cepa	: Balb/c/CNPB	Edad	: 2 meses
Peso	: Mayor a 25 gr.	Sexo	: Macho (35) Hembra (10)
Boleta de Venta	: B002-0004400	Destino	: Huarcaya Cavero, Alejandr
Fecha	: 26-08-2024		

El Médico Veterinario, que suscribe, **Jorge Ruiz Alarcón** Coordinador de Bioterio Certifica que los animales arriba descritos se encuentran en buenas condiciones sanitarias *.

*Referencia : PRT-CNPB-002-BIO, Procedimiento: "Control Sanitario de Animales del Bioterio

Chorrillos, 26 de agosto del 2024

(Fecha de emisión del certificado)

M.V. Jorge Ruiz Alarcón.
C.M.V.P. 5052

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

ANEXO N°11

Ratones	dosis	Peso	Administración		Carbon activado		Hora de muerte	Intestino cm		%
			Volumen (ml)	Tiempo	volumen (ml)	Tiempo		Marcado CA	Tamaño total	
1										
2										
3										
4										
5										

Cuadro de control de la prueba de actividad antidiarreica



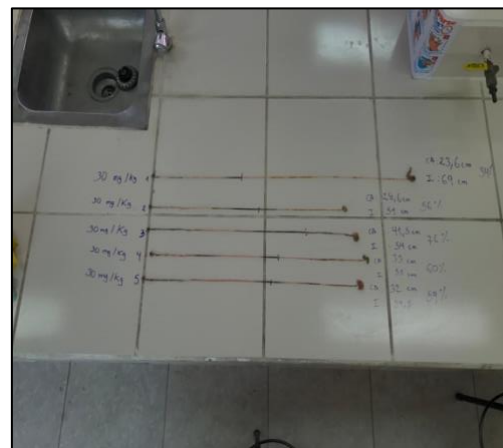
Peso de cada ratón



Administración vía oral Extracto



Medición del recorrido intestinal



Resultado

ANEXO N°12



1 g de extracto



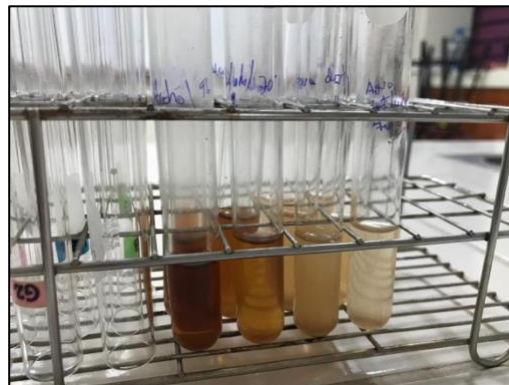
Rotulado en los tubos de ensayo



cada solvente se realiza 3 veces



Mezclado



Resultados en diferentes solventes

ANEXO N°13



Preparación de suspensión oral



Preparación de 6 sabores distinto



Rotulado en código



Prueba de gusto sensorial

https://docs.google.com/forms/d/e/1FAIpQLSfaYeeYN2eEeFVbTu-jdlymMbseiGAJ-tMEaqyf0mrJaB46vA/viewform?usp=pp_url

CATACION DE SABORES

Responda las siguientes preguntas:

1-MUY DESAGRADABLE
2-POCO DESAGRADABLE
3-ACEPTABLE
4-AGRADABLE
5-MUY AGRADABLE

xxalejandro50xx@gmail.com [Cambiar de cuenta](#)

No compartido

¿TE GUSTÓ EL SABOR A ?

1	2	3	4	5
☆	☆	☆	☆	☆

¿TE GUSTÓ EL SABOR B?

1	2	3	4	5
☆	☆	☆	☆	☆

¿TE GUSTÓ EL SABOR C?

1	2	3	4	5
☆	☆	☆	☆	☆

¿TE GUSTÓ EL SABOR D?

1	2	3	4	5
☆	☆	☆	☆	☆

¿TE GUSTÓ EL SABOR E?

1	2	3	4	5
☆	☆	☆	☆	☆

¿TE GUSTÓ EL SABOR F?

1	2	3	4	5
☆	☆	☆	☆	☆



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

CERTIFICADO SANITARIO N° 161-2024

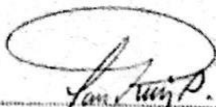
Producto	: Ratón albino	Lote N°	: M - 48- 2024
Especie	: <u>Mus musculus</u>	Cantidad	: 25
Cepa	: Balb/c/CNPB	Edad	: 1 mes ½
Peso	: Mayor a 25 gr.	Sexo	: macho
Boleta de Venta	: B002-0004520	Destino	: Huarcaya Cavero, Alejandro
Fecha	: 26-11-2024		

El Médico Veterinario, que suscribe, **Jorge Ruiz Alarcón** Coordinador de Bioterio Certifica, que los animales arriba descritos se encuentran en buenas condiciones sanitarias *.

*Referencia : PRT-CNPB-002-BIO, Procedimiento: "Control Sanitario de Animales del Bioterio"

Chorrillos, 26 de noviembre del 2024

(Fecha de emisión del certificado)


M.V. Jorge Ruiz Alarcón,
C.M.V.P. 5052

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

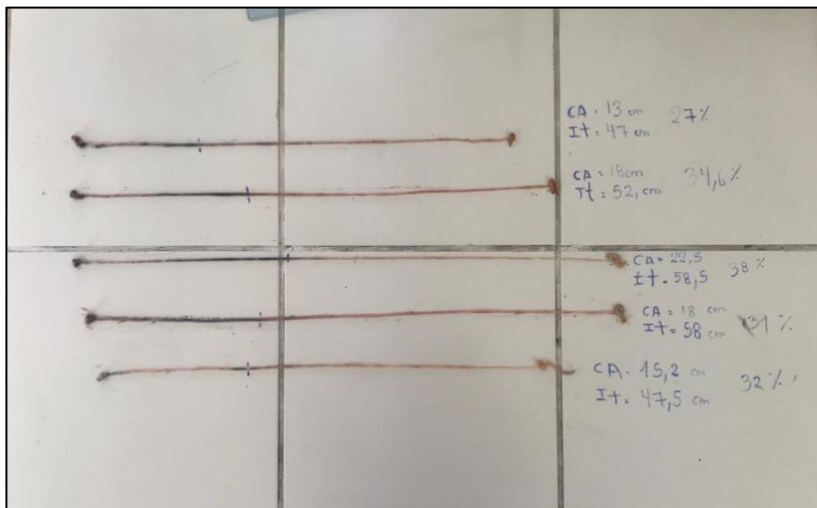
ANEXO N°15



Suspensiones de 2%, 5% y 10%

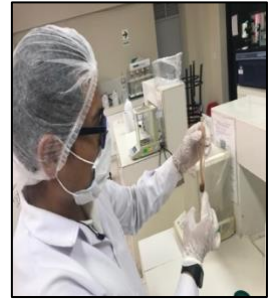


Distancia recorrida de la suspensión



Resultado

ANEXO N°16



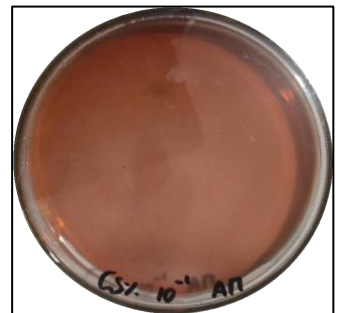
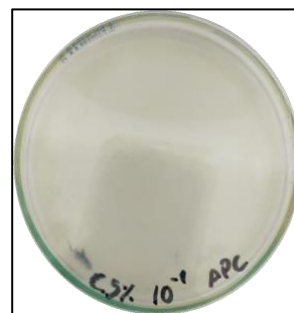
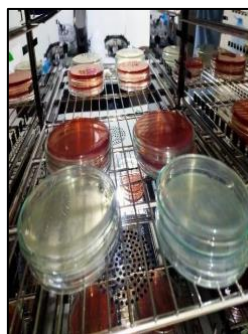
características organolépticas



Densidad



pH




Análisis microbiológico

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Solicitado por	: Rizoagrum S.A.C.
Cultivo	: -----
Tipo de muestra	: Suspensión a base de extractos vegetales
Fecha de recepción	:
Fecha de proceso	:
Área	: Laboratorio Agrícola
Objetivo de análisis	: Determinación de microorganismos

DETERMINACIÓN DE MICROORGANISMOS

Presencia del microorganismo.	Negativo	
Metodologías empleadas	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Diluciones seriadas ✓ Siembra por superficie. ✓ Siembra por incorporación. ✓ Lectura de medios de cultivo 	
Identificación	Negativo	
<p>Procesamiento: Todos los materiales fueron esterilizados en autoclave a 121 °C durante 20 minutos.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Siembra de bacterias heterótrofas - Siembra de enterobacterias - Siembra de levaduras - Siembra de hongos filamentosos <p>1. Muestra: Se tomó 1 mililitro de la muestra y se transfirió a 9 mililitros de solución salina fisiológica para obtener la dilución 10⁻¹, repitiendo el proceso hasta alcanzar la dilución 10⁻³.</p> <p>2. Siembra: Se tomaron 200 microlitros de las diluciones y se sembraron por triplicado mediante el método de incorporación en medio de cultivo TBX y MacConkey para el crecimiento de enterobacterias.</p> <p>Adicionalmente, se sembraron por triplicado 200 microlitros mediante siembra por superficie en medios PDA, Plate Count y Manitol Salado para el crecimiento de hongos filamentosos y levaduras, bacterias heterótrofas y <i>Staphylococcus spp.</i>, respectivamente.</p> <p>3. Incubación</p> <ul style="list-style-type: none"> - Las placas de TBX, Manitol Salado y MacConkey se incubaron a 37 °C durante 48 horas. - Las placas de PDA se incubaron a 27 °C durante 6 días. - Las placas de Plate Count se incubaron a 30 °C durante 48 horas. 		



UNIVERSIDAD NACIONAL SAN LUIS GONZAGA
COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN



CERTIFICADO

CEI-UNICA N°0017/06-2024

El que suscribe, certifica que:
El **Proyecto de Investigación** titulado

**“Actividad Antidiarreica de una forma Farmacéutica líquida
a partir del extracto etanólico obtenido de la especie
Polylepis racemosa Ruiz & Pav.”**

De los autores:

- **ESTUDIANTE:** BACH. HUARCAYA CAVERO ALEJANDRO IVÁN
- **ASESOR:** DRA. BENDEZÚ ACEVEDO MARÍA DOLORES
- **MAG. FERREYRA PAREDES CARMELA BETTY**

Cumple con los procedimientos establecidos en el Reglamento del Comité de Ética para la investigación con seres humanos, animales y plantas de la Universidad Nacional “San Luis Gonzaga”, aprobado con R.R. N° 1305-R-UNICA-2020.

Se expide el presente a los 05 días mes de junio de 2024.

DR. FELIPE ARTEMIO SURCO LAOS
Presidente

Comité de Ética para la Investigación
Universidad Nacional San Luis Gonzaga
felipe.surco@unica.edu.pe