

ARTICLE / INVESTIGACIÓN

Acción antibacteriana de extractos corteza de *Maytenus macrocarpa* (Chuchuhuasi) contra cepas ATCC de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*

Antibacterial action of *Maytenus macrocarpa* (Chuchuhuasi) bark extracts against ATCC strains of *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*

Pool Marcos-Carbajal^{1,2*}, Christian Allca-Muñoz^{3,5}, Juan Carlos Castro-Sánchez¹, Luis Felipe Segura-Chavez², Alberto Salazar-Granara³

DOI. 10.21931/RB/2023.08.03.101

¹Laboratorio de Microbiología, Servicio Patología Clínica y Banco de Sangre, Clínica Americana Juliaca.

²Universidad Peruana Unión, Escuela Profesional de Medicina Humana, Laboratorio de Investigación en Biología Molecular,

³Universidad San Martín de Porres, Facultad de Medicina Humana, Centro de Investigación de Medicina Tradicional y Farmacología.

⁴Sociedad Peruana de Farmacología y Terapéutica Experimental - SOPFARTEX.

⁵Sociedad Científica de Estudiantes de Medicina de la Universidad de San Martín de Porres. Lima, Perú.

Corresponding author: poolmarcos@upeu.edu.pe

Resumen: El aumento de infecciones comunitarias como las hospitalarias a causa de infecciones por bacterias con resistencia a múltiples drogas antibióticas. Constituyen en la actualidad como uno de los problemas de mayor preocupación en salud pública global, generando la necesidad de poder encontrar nuevas alternativas terapéuticas, siendo así que se ha ampliado la búsqueda a través de los principios activos en plantas con efecto antimicrobiano. *Maytenus macrocarpa* "Chuchuhuasi" es un árbol nativo de la región Amazónica del Perú utilizado como analgésico, antiinflamatorio y antioxidante. Este árbol se caracteriza por contener compuestos activos como triterpenoquinonas y dímeros triterpénicos los cuales pueden presentar actividad antimicrobiana. El objetivo del presente estudio fue determinar la acción antimicrobiana de flavonoides y alcaloides de *Maytenus macrocarpa*, contra las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922, determinándose la actividad antimicrobiana de los extractos mediante el método Kirby Bauer. Se encontró que las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922 fueron resistentes a todos los extractos de *Maytenus macrocarpa*, siendo sensible la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Se concluye que los extractos de *Maytenus macrocarpa* no presentan actividad antimicrobiana frente a cepas gram negativas, pudiendo ser considerada una buena opción terapéutica frente a cepas gram positivas.

Palabras clave: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, Antibacterianos, *Maytenus*, Extractos vegetales (fuente: DeCS BIREME).

Abstract: The increase in community infections such as hospital infections due to infections by bacteria with resistance to multiple antibiotic drugs. They currently constitute one of the problems of greatest concern in global public health, generating the need to be able to find new therapeutic alternatives, and so the search has been expanded through the active principles in plants with antimicrobial effect. *Maytenus macrocarpa* "Chuchuhuasi" is a tree native to the Amazon region of Peru used as an analgesic, anti-inflammatory and antioxidant. This tree is characterized by containing active compounds such as triterpenoquinones and triterpene dimers, which may have antimicrobial activity. The objective of this study was to determine the antimicrobial action of flavonoids and alkaloids from *Maytenus macrocarpa*, against the strains of *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25923 and *Escherichia coli* ATCC 25922, determining the antimicrobial activity of the extracts using the Kirby Bauer method. It was found that the strains of *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25923 and *Escherichia coli* ATCC 25922 were resistant to all the extracts of *Maytenus macrocarpa*, being the strain of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 sensitive. It is concluded that the extracts of *Maytenus macrocarpa* do not present antimicrobial activity against strains gram negative strains and can be considered a good therapeutic option against gram positive strains.

Key words: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, Antibacterials, *Maytenus macrocarpa*, vegetable extracts (fuente: DeCS BIREME).

Introducción

En la Asamblea Mundial de la Salud celebrada en mayo de 2015 se aprobó un plan de acción mundial para luchar contra la resistencia a los antimicrobianos, incluida la resistencia a los antibióticos, el cual tiene como objetivo ga-

rantizar, la continuidad de la prevención y el tratamiento de las enfermedades infecciosas con medicamentos eficaces, seguros y de calidad garantizada, que se usen de modo responsable y sean accesibles a todas las personas que

Citation: Marcos-Carbajal P, Allca-Muñoz C, Castro-Sánchez J C, Segura-Chavez L F, Salazar-Granara A. Acción antibacteriana de extractos corteza de *Maytenus macrocarpa* (Chuchuhuasi) contra cepas ATCC de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*. *Revis Bionatura* 2023;8 (3) 101 <http://dx.doi.org/10.21931/RB/2023.08.03.101>

Received: 25 June 2023 / **Accepted:** 26 August 2023 / **Published:** 15 September 2023

Publisher's Note: Bionatura stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Copyright: © 2022 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).



los necesiten¹. Ante la publicación de la lista de patógenos prioritarios a nivel mundial, la Organización Mundial de la Salud (OMS) dentro de sus objetivos recomienda reforzar la investigación y el desarrollo de nuevos antimicrobianos que son necesarios ahora y en el futuro para que puedan usarse contra las infecciones multirresistentes². Es conocido en el mundo, a través de la etnobotánica/Medicina tradicional que ha sido útil el uso de extractos de plantas en complicaciones severas de salud y enfermedades infecciosas, muchas de ellas son de uso tradicional en comunidades indígenas siendo usadas por ejemplo en infecciones urinarias complicadas³.

El Perú es el quinto país en el mundo en número de plantas conocidas y usadas por la población, este posee aproximadamente el 8% del número total de plantas en el mundo en forma específica la amazonia peruana⁶. Existe pocos estudios previos relacionados con el estudio de propiedades antibacterianas, fitoquímicas y con potencial medicinal⁶.

La identificación de principios activos de plantas peruanas abre una gama de posibilidades para el descubrimiento de nuevos fármacos antibacterianos contra las bacterias multidrogasresistentes^{10,11}.

Maytenus macrocarpa (Chuchuhuasi) es un árbol difundido en el Perú, propio de la amazonia peruana. Los pobladores utilizan la corteza, raíz y hojas en forma tradicional para el reumatismo, artritis, bronquitis, diarreas, siendo también usado como analgésico y antiinflamatorio¹³.

El objetivo de este trabajo es explorar la actividad antibacteriana de *Maytenus macrocarpa* (chuchuhuasi) frente a cepas bacterianas *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*.

Materiales y métodos

Diseño y población de estudio

Es de tipo experimental *in vitro*. Los extractos fueron obtenidos en el Centro de Investigación de Medicina Tradicional y Farmacología (CIMTFAR), de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad de San Martín de Porres (FMH-USMP), en Lima-Perú. Los ensayos microbiológicos fueron de los laboratorios de microbiología de la Clínica Americana Juliaca y de la Escuela Profesional de Medicina de la Universidad Peruana Unión. La corteza de *Maytenus macrocarpa*, fue colectada en la región de Madre de Dios (Sureste, Perú), de acuerdo con los criterios del método de Cerrate, E^{5,12}. La autenticación e identificación taxonómica de la planta, fue realizado por especialistas del Herbario Vargas CUZ de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cuzco, donde se depositó los especímenes con número de voucher 3547 y 3653^{13,14}. Se utilizaron cepas bacterianas; *Escherichia coli* ATCC 25922; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (Microbiologics, St. Cloud, Minnesota USA). Como control se utilizaron los siguientes discos de antibióticos; Nitrofurantoina 100 mcg; Imipenem 10 mcg y Cefoxitin 30 mcg adquiridos en Belomed (Bioanalyse (Ivedik Osb/Yenimahalle, Turquía).

Obtención de extractos

Se obtuvieron 3 extractos: totales, flavonoides y alcaloides.

Extractos totales

El extracto se preparó a partir de material seco y molido de la corteza del *Maytenus macrocarpa*, el cual fue macerado durante una semana en etanol al 70°, el cual se preparó a partir de etanol absoluto (Sigma-Aldrich Inc. ST. Louis MO 63103 United States). Posteriormente la mixtura se filtró mediante papel Whatman de 1,6 a 1,2 mm. Los solventes fueron purificados y eliminados a través de rotaevaporación a una temperatura de 45°C, obteniéndose residuos que fueron secados en una estufa por un periodo de 7 días.

Extracción de flavonoides

Se empleó una técnica adaptada, descrita por Simonska B y col.¹⁵ Se realizó el secado de la muestra de la corteza del árbol en una estufa a 37°C, para poder posteriormente ser molida hasta obtener un polvo fino y homogéneo. Luego se colocó 20 g. de muestra pulverizada con 200 ml. de metanol en el equipo Soxhlet con una temperatura de 37°C, dejando reposar durante 72 h. Después se realizó el filtrado del extracto metanólico y se colocó en un rotaevaporador a 45°C hasta eliminar el solvente, el extracto bruto obtenido fue diluido en 300 ml de agua al concentrado de extracto metanólico, luego 150 ml. de éter de petróleo para dejar reposar durante 4 h. hasta lograr obtener dos fases de la muestra, una acuosa y otra aceitosa. Por último, la fase acuosa se acidificó añadiendo hasta 450 ml. de acetato de etilo, dejando reposar durante una hora, hasta la separación de las dos fases. Para la fase ácida se concentró en el rotaevaporador a 45°C para luego llevarlo a la estufa a 37°C, obteniendo un polvo seco de flavonoides.

Extracción de alcaloides

Se empleó una técnica adaptada, descrita por Muzquiz M y col.¹⁴ Se realizó el secado de la muestra de vegetación en estufa a 37°C, para poder moler la muestra de vegetación hasta obtener un polvo fino y homogéneo. Luego se mezcló y agitó con 100 g. de muestra de vegetación con 1 L. de HCl 2N y se agitó durante 4 h. Después se realizó el centrifugado a la solución durante 15 minutos a 8000 rpm. para luego eliminar el residuo acuoso y quedarnos con la fase sólida de la muestra. Por último, se alcalinizó la fase sólida con NaOH 6N, hasta alcanzar un pH de 8 a 10 (entre 50 y 100 ml.) Posteriormente se transfirió a un embudo de decantación, agregando 400 ml. de diclorometano (CH₂Cl₂), agitándose por un total de 4 horas, hasta obtener dos fases. A su vez, se recuperó la fase inferior en un matraz Florence, llevándolo a un rotaevaporador a 45°C para su concentración, obteniéndose un extracto de alcaloide crudo que se diluye en agua destilada.

Fase microbiológica

Para la preparación del inóculo se partió de un cultivo de 18 a 24 h a 37 °C en Agar Trypticase Soya logrando obtener una fase logarítmica en solo 4 horas de incubación, ajustando la concentración a una densidad óptica de 0,3 a 600nm (3,1 x 10⁸ UFC/ mL). A partir de estos cultivos en crecimiento activo, se seleccionan tres a cinco colonias y se suspenden en 5 mL. de solución salina estéril (NaCl 0,85%). El resultado de la suspensión se homogeneizó durante 15 segundos y su turbidez se ajustó a 0,5 de la escala Mc Farland (1.5 x 10⁸ ufc/ml). La técnica está basada en el método originalmente descrito por Bauer *et al.*⁴ Se sembraron en placas de Petri con Agar Müeller-Hinton (AMH) sobre la superficie de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC

27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922 respectivamente. El hisopado se realizó de forma uniforme y se incubaron en una estufa a 37 °C a temperatura durante por 24 horas en forma aerobia. También se procedió a impregnar cada disco estéril de 6 mm de diámetro (papel filtro Whatman #4) con 20 µL. de cada concentración de 12 y 6 mg. de extracto etanólico, pool de alcaloides y pool de flavonoides de la corteza de *Maytenus macrocarpa* disueltos en etanol. Además, se colocó como control negativo un disco de papel Whatman #4 con 10 µL de agua destilada y como control positivo se usó imipenem en concentración de 100 mcg., cefoxitina en concentración de 30 mcg. y nitrofurantoina en concentración de 100 mcg. para las bacterias utilizadas¹⁶. Al final del período, las zonas de inhibición formadas se midieron en milímetros usando el vernier, las zonas de inhibición de menos de 15 mm de diámetro no se consideraron para el análisis de la actividad antibacteriana. Cabe mencionar que, para cada extracto, se realizaron réplicas por triplicado.

Análisis estadísticos

Los datos se consignan como descriptivos, con medidas de tendencia central y se presentan en tablas de 2 x 2. Se usó como paquete informático el software Microsoft Excel Versión 2010.

Consideraciones éticas

Se solicitó el permiso al comité de ética y se exoneró por ser un estudio que no involucra humanos. El estudio fue aprobado por el Instituto de Investigación de la Facultad de Medicina Humana de la USMP.

Resultados

Actividad antibacteriana de los extractos de *Maytenus macrocarpa* frente a cepas ATCC

Los resultados revelaron que los 3 extractos de la corteza del chuchuhuasi ejercen actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (Media: 26 mm; Concentración: 12 y 6 mg/ml). Sin embargo, los extractos de *Maytenus macrocarpa* no exhibieron una mayor actividad antibacteriana contra *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (Media: 15 mm; Concentración: 12 y 6 mg/ml) y *Escherichia coli* ATCC 25922 (Media: 15 mm; Concentración: 12 y 6 mg/ml). (Datos no mostrados). Cabe mencionar que se usó controles positivos, el imipenem para *Pseudomonas*

aeruginosa ATCC 27853 (Media: 26 mm), Cefoxitin para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (Media: 27 mm) y Nitrofurantoina para *Escherichia coli* ATCC 25922 (Media: 26 mm) (Ver tabla No 1,2 y 3)

Discusión

Después de la aparición de patógenos resistentes a múltiples drogas, la investigación de nuevas alternativas de remedio ha llevado al reconocimiento del potencial de los extractos de plantas medicinales para tratar las infecciones asociadas a este tipo de microorganismos. Entre los principales patógenos mencionados por la OMS a los que se necesitan urgentemente antimicrobianos más nuevos están *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y enterobacterias multidrogoresistentes¹⁻³.

Este estudio, tuvo como objetivo determinar la actividad antibacteriana de *Maytenus macrocarpa* con el fin de validar científicamente sus propiedades terapéuticas. El Chuchuhuasi es una planta endémica, la cual es utilizada en la medicina tropical, en pueblos amazónicos del Perú. Esta especie se suele utilizar tanto en remedios populares con diversas indicaciones como, antirreumático, afección pulmonar y anti-inflamatorio, y propuesto como alternativas novedosas de terapia contra estas bacterias resistentes. En el caso de la mastitis, absceso de la glándula mamaria, es usado el chuchuhuasi como uso tópico^{16,17}.

Mediante el método de difusión en agar se midió la capacidad de inhibición del crecimiento bacteriano y está basado en la rica variedad de fitoquímicos incluyendo flavonoides, taninos, cumarinas, terpenoides, triterpenos, alcaloide y todos los compuestos se puede aislar fácilmente por etanol, que es un disolvente adecuado para la extracción de materiales vegetales bioactivos. De hecho, es importante enfatizar que los curanderos tradicionales pueden usar alcohol o aguardiente fácilmente para preparar las maceraciones empleadas en la fitoterapia¹⁸⁻²⁰.

Se realizaron análisis químicos de la corteza de *Maytenus macrocarpa* obteniendo los 3 extractos mencionados para evidenciar en forma exacta los componentes responsables de la actividad antibacteriana, lográndose observar que los 3 ejercen eficacia bacteriana contra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 a 12 y 6 mg/ml. Continua realizar estudios posteriores en el cual se deben someterse a evaluaciones farmacológicas con el objetivo de evaluar su eficacia *in vivo*, toxicidad, posibles efectos adversos, interacciones y contraindicaciones^{22,23}.

VARIABLES	Control negativo	Control positivo	EET		PAL		PFL	
			10 mcg.	6 mg/ml	12 mg/ml	6 mg/ml	12 mg/ml	6 mg/ml
Sensible si halo de inhibición > 25 mm	NO	SI	NO	NO	NO	NO	NO	NO
Resistente si halo de inhibición < 25 mm	SI	NO	SI	SI	SI	SI	SI	SI
Control negativo: agua destilada, Control positivo: imipenem, EET: Extracto etanólico, PAL: Pool alcaloides, PFL: Pool flavonoides								

Tabla 1. Actividad antibacteriana obtenida del extractos de corteza de *Maytenus macrocarpa* (Chuchuhuasi), frente a cepa de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

VARIABLES	Control negativo	Control positivo	EET		PAL		PFL	
			30 mcg.	6 mg/ml	12 mg/ml	6 mg/ml	12 mg/ml	6 mg/ml
Sensible si halo de inhibicion > 25 mm	NO	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
Resistente si halo de inhibicion < 25 mm	SI	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO
Control negativo: agua destilada, Control positivo: imipenem, EET: Extracto etanolico, PAL: Pool alcaloides, PFL: Pool flavonoides								

Tabla 2. Actividad antibacteriana obtenida del extractos de corteza de *Maytenus macrocarpa* (Chuchuhuasi), frente a cepa de *Stahylococcus aureus* ATCC 25923.

VARIABLES	Control negativo	Control positivo	EET		PAL		PFL	
			30 mcg.	6 mg/ml	12 mg/ml	6 mg/ml	12 mg/ml	6 mg/ml
Sensible si halo de inhibicion > 25 mm	NO	SI	NO	NO	NO	NO	NO	NO
Resistente si halo de inhibicion < 25 mm	SI	NO	SI	SI	SI	SI	SI	SI
Control negativo: agua destilada, Control positivo: imipenem, EET: Extracto etanolico, PAL: Pool alcaloides, PFL: Pool flavonoides								

Tabla 3. Actividad antibacteriana obtenida del extractos de corteza de *Maytenus macrocarpa* (Chuchuhuasi), frente a cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922.

Estos resultados anteriormente descritos validan científicamente su capacidad inhibitoria atribuida por su uso común en medicina popular y contribuyen al desarrollo de nuevas opciones de tratamiento basadas en productos naturales. Refuerzan la importancia de la planta analizada como fuente de compuestos bioactivos para el tratamiento de enfermedades infecciosas relacionadas con *S. aureus*. Cabe mencionar la importancia de la etnobotánica que impulsa el uso de plantas medicinales peruanas como usos tópicos en este tipo de infecciones al ser humano¹⁷.

Hoy en día se requieren realizar más estudios de investigación proveniente de diferentes drogas con el fin de poder encontrar alternativas frente a la resistencia bacteriana. Estudios en medicina traslacional han empleado el uso de metformina como agente bacteriano sin embargo los resultados varían entre cepas empleadas para la sensibilidad frente a los patógenos estudiados²²⁻²⁴. Sin embargo, estudios con diferentes familias de *Maytenus ilicifolia Martius*, si lograron demostrar sensibilidad frente a las cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25175¹⁶.

También De Leon *et al*, 2010 describieron la actividad y mecanismo de acción de la zeilasterona un triterpenoide de 6-oxofenólico, mostrando su mayor actividad contra *S. aureus* en comparación con demetilzeilasterona u otros triterpenoides fenólicos como zeilasteral y demetilzeilasteral, pudiendo orientar a la búsqueda de terpenoides naturales en *Maytenus macrocarpa* cultivada en Perú probando su efecto bactericida¹⁶. Resultados similares fueron descritos por Lindsey *et al* mediante el uso de extractos de *Maytenus senegalensis* de raíces, plantas medicinales de Kenya.

Sin embargo, su capacidad antibacteriana fue parecida y orientada a bacterias gran positivas, la que fue reportado en nuestro estudio, a diferencia que ellos incluyeron *Bacillus subtilis*²⁴.

Por lo cual es importante establecer nuevas investigaciones para el descubrimiento de drogas de segundo uso, elaboración de nuevos fármacos o los hallazgos de los principios activos en la medicina tradicional para poder combatir la resistencia bacteriana y lograr reducir así la letalidad a nivel mundial ocasionado por el uso indiscriminado de antibióticos.

Limitaciones

Entre las limitaciones que presenta el estudio se han observado la utilización de equipos especiales para aceites esenciales usados en estándares internacionales como el de Clevenger logrando obtener mejor calidad y rendimiento de los aceites, pudiendo ser complementado con el análisis de cromatografía de gases acoplado a un espectrómetro de masas (GC-MS). Otra limitación que presentó el estudio es que no se realizó extracciones de diferentes partes de la planta (tallos frescos, hojas, etc.), ya que de ello depende la cantidad y calidad de aceite esencial.

Conclusiones

Se concluye que los extractos de corteza de *Maytenus macrocarpa* posee efecto antibacteriano *in vitro* en las concentraciones de 6 y 12 mg/ml sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 observado mediante la producción de halo

de inhibición por el método de Kirby Bauer, no ocurriendo frente a cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Escherichia coli* ATCC 25922. Por lo tanto, estos extractos no presentan actividad antimicrobiana frente a cepas gram negativas, pudiendo ser considerada una buena opción terapéutica frente a cepas gram positivas específicamente para *Staphylococcus aureus*.

Agradecimientos

Al Centro de Investigación en Medicina Tradicional y Farmacología (CIMTFAR) de la Facultad de medicina Humana Universidad San Martín de Porres (USMP) por proporcionar los extractos de *Maytenus macrocarpa*. A los administradores de la Clínica Americana Juliaca (CAJ) y EP Medicina Humana de la Universidad Peruana Unión (UPEU) por permitir la parte experimental con las cepas bacterianas ATCC.

Financiamiento

EP Medicina Humana de la Universidad Peruana Unión (UPEU) / Facultad de Medicina Humana de la Universidad San Martín de Porres (USMP) / Clínica Americana Juliaca (CAJ).

Conflictos de Interés

Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

Referencias bibliográficas

1. Organización Mundial de la Salud. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023 [Internet]. Organización Mundial de la Salud; 2013 [citado 6 de julio de 2021]. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/95008>
2. Jiménez Pearson MA, Galas M, Corso A, Hormazábal JC, Duarte Valderrama C, Salgado Marcano N, et al. Consenso latinoamericano para definir, categorizar y notificar patógenos multirresistentes, con resistencia extendida o panresistentes. *Rev Panam Salud Publica*. 2019; 1-8.
3. Balouiri M, Sadiki M, Ibsouda SK. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 2016; 6(2): 71-9.
4. Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol*. 1966; 45(4): 493-6.
5. Cerrate E. Manera de preparar plantas para un herbario. Serie de Divulgación No.1. Lima: Museo de Historia Natural; 1969. p. 10.
6. Bussmann RW, Sharon D. Plantas medicinales de los Andes y la Amazonía - La flora mágica y medicinal del Norte del Perú [Internet]. Perú; 2015 [citado 9 de julio de 2021]. Disponible en: <http://journals.sfu.ca/era/index.php/era/article/view/1281>
7. Chávez H, Rodríguez G, Estévez-Braun A, Ravelo AG, Estévez-Reyes R, González AG, et al. Macrocarpins A-D, new cytotoxic nor-triterpenes from *Maytenus macrocarpa*. *Bioorg Med Chem Lett*. 17 de abril de 2000; 10(8): 759-62.
8. Múzquiz, M., Burbano, C., Cuadrado, C.; De La Cuadra, C. Determinación de factores antinutritivos termorresistentes en leguminosas. I: Alcaloides. *Invest. Agr.: Prod. Prot. Veg*. 1993; 8(3): 351-361.
9. León Fernández AM, Tupia Céspedes LL, Turriate Montaldo Y, Maraví Rengifo JE, Barrientos Herrera AJ, Urbano Farje OJ, et al. Evaluación de la actividad analgésica central de las hojas de *Maytenus macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Briq. (chuchuhuasi). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 2014; 19(4): 349-60.
10. Kloucek P, Svobodova B, Polesny Z, Langrova I, Smrcek S, Kokoska L. Antimicrobial activity of some medicinal barks used in Peruvian Amazon. *J Ethnopharmacol*. 2007; 111(2): 427-9.
11. Uso-Apropiado-de-Antibioticos-y-Resistencia-Bacteriana.pdf | Armando Guevara - Academia.edu. [accessed 2021 Jul 6]. <https://www.academia.edu/34042078/Uso-Apropiado-de-Antibioticos-y-Resistencia-Bacteriana.pdf>
12. Portal de Información - Medicamentos Esenciales y Productos de Salud. [accessed 2021 Jul 6]. <https://digicollections.net/medicinedocs/>
13. Jiménez-Grados L, Kolevic-Saraza N, Jara-Huancaya U, Meléndez-Aquino J, Jiménez-Cabezudo C, Salazar-Granara A, et al. Referencia de los usos medicinales del chuchuhuasi (*Maytenus macrocarpa*) por curanderos del distrito de Santa María de Huachipa, Lurigancho, Lima - Perú: un estudio cualitativo. *Horizonte Médico (Lima)* [Internet]. 2020 [citado 6 de noviembre de 2021];20(3). Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1727-558X2020000300008&lng=es&nrm=iso&tlng=es
14. Rojas R, Bustamante B, Bauer J, Fernández I, Albán J, Lock O. Antimicrobial activity of selected Peruvian medicinal plants. *J Ethnopharmacol*. 2003; 88(2-3): 199-204.
15. Simonovska B, Vovk I, Andresek S, Valentová K, Ulrichová J. Investigation of phenolic acids in yacon (*Smallanthus sonchifolius*) leaves and tubers. *J Chromatogr A*. 2003; 1016(1): 89-98.
16. De León L, López MR, Moujir L. Antibacterial properties of zeylasterone, a triterpenoid isolated from *Maytenus blepharodes*, against *Staphylococcus aureus*. *Microbiol Res*. 2010; 165(8): 617-26.
17. Lindsey KL, Matu EN, van Staden J. Antibacterial activity of extracts from in vitro grown *Maytenus senegalensis* root cultures. *South African Journal of Botany*. 2006; 72(2): 310-2.
18. Zambrano Santoyo C, Zúñiga Espinoza L, Zanabria Puente R, Zegarra Sánchez J, Zaga Quispe N, Pante Medina C, et al. Antipsychotic and behavior effect of the ethanolic extract from the bark of *Maytenus macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Briq. *in mice*. *Pharmacogn Commn*. 2015; 5(4): 244-9.
19. Ulloa-Urizar G, Aguilar-Luis MA, De Lama-Odría M del C, Camarena-Lizazaburu J, del Valle Mendoza J. Antibacterial activity of five Peruvian medicinal plants against *Pseudomonas aeruginosa*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2015; 5(11): 928-31.
20. Valle DL, Andrade JI, Puzon JJM, Cabrera EC, Rivera WL. Antibacterial activities of ethanol extracts of Philippine medicinal plants against multidrug-resistant bacteria. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2015; 5(7): 532-40.
21. Marcos-Carbajal P, Allca-Muñoz C, Urbano-Niño Á, Salazar-Granara A. Exploración de la actividad antibacteriana de Metformina frente a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*. *Revista Bionatura*. 2020; 5(4): 1335-9.
22. Nasrin F. Study of Antimicrobial and Antioxidant potentiality of Anti-diabetic drug Metformin. *International Journal of Pharmaceutics and Drug Analysis*. 2014; 2(3): 220-4.
23. Meherunisa, Jaiswal S, Seth V. Study of Metformin Effect on Antimicrobial Property. *IABCR*. 2018; 4(3): 85-7.
24. González Ramírez VM, González Santacruz C, Méndez González DM, Nakayama HD, Ferreira F, Franco G, et al. Actividad antibacteriana in vitro de *Maytenus ilicifolia* Martius sobre *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus aureus*. *Investigaciones y Estudios-UNA*. 2020; 11(1): 34-46.