



**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

**ACTIVIDAD ANTITROMBÓTICA DE EXTRACTOS NATURALES  
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE LICENCIADO EN TECNOLOGÍA  
MÉDICA**

**AUTORA: MELISA URRUTIA ALARCÓN  
PROFESOR GUÍA: TM. Dr. IVÁN PALOMO GONZÁLES**

**TALCA-CHILE  
2021**

## CONSTANCIA

La Dirección del Sistema de Bibliotecas a través de su unidad de procesos técnicos certifica que el autor del siguiente trabajo de titulación ha firmado su autorización para la reproducción en forma total o parcial e ilimitada del mismo.



Talca, 2022



## ÍNDICE DE CONTENIDO

<b>RESUMEN</b> .....	7
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	8
<b>OBJETIVO</b> .....	10
1. OBJETIVO GENERAL .....	10
2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	10
<b>METODOLOGÍA DE BÚSQUEDA Y ORGANIZACIÓN DE LA INFORMACIÓN</b> .....	11
1. Búsqueda de la información .....	11
2. Selección de la información .....	11
3. Organización de la información .....	11
4. Análisis de la información.....	11
<b>ABREVIATURAS</b> .....	12
<b>MARCO TEÓRICO</b> .....	13
1. Eventos trombóticos .....	13
2. Extractos naturales con actividad anticoagulante .....	15
2.1. Extracto de <i>Thymus atlanticus</i> .....	15
2.2. Extracto de <i>Dendropanax morbifera</i> .....	16
2.3. Extracto de <i>Cydonia oblonga</i> .....	17
2.4. Extracto de <i>Malus halliana</i> Koehne.....	18
2.5. Extracto de <i>Momordica charantia</i> .....	18
2.6. Extracto de <i>Cercis chinensis</i> .....	19
2.7. Extracto de <i>Artemisia dracunculus</i> .....	20
2.8. Extracto de <i>Carthamus tinctorius</i> .....	21

3.	Extractos naturales con actividad antiplaquetaria .....	25
3.1.	Extracto de <i>Salvia miltiorrhiza</i> Bunge .....	25
3.2.	Extracto de <i>Humulus lupulos</i> .....	26
3.3.	Extracto de <i>Juglans regia</i> L. ....	27
3.4.	Extracto de <i>Rubia tinctorum</i> L. ....	28
3.5.	Extracto de <i>Allium cepa</i> L. ....	29
3.6.	Extracto de <i>Crataegus pinnatifida</i> .....	30
3.7.	Extracto de <i>Crataegus monogyna</i> y <i>Crataegus davisii</i> .....	31
3.8.	Extracto de <i>Piper wallichii</i> .....	31
3.9.	Extracto de <i>Eisenia bicyclis</i> .....	32
3.10.	Extracto de <i>Lindera obtusiloba</i> .....	33
3.11.	Extracto de <i>Toxicodendron vernicifluum</i> .....	34
3.12.	Extracto de <i>Mauritia flexuosa</i> .....	35
3.13.	Extracto de <i>Psidium guajava</i> y <i>Psidium friedrichsthalianum</i> .....	37
3.14.	Extracto de <i>Mangifera indica</i> L. ....	38
3.15.	Extracto de <i>Annona cherimola</i> Mill. ....	39
3.16.	Extracto de <i>Chenopodium quinoa</i> Will. ....	40
3.17.	Extracto de <i>Lupinus spp.</i> .....	41
3.18.	Extracto de <i>Allium sativum</i> .....	42
3.19.	Extracto de <i>Beta vulgaris</i> L. ....	44
4.	Extractos naturales con actividad fibrinolítica .....	53
4.1.	Extracto de <i>Chlorella vulgaris</i> .....	53
5.	Extractos naturales con actividad anticoagulante y antiplaquetaria .....	54
5.1.	Extracto de <i>Ginkgo biloba</i> .....	54

5.2. Extracto de <i>Dioscorea zingiberensis</i> .....	56
5.3. Extracto de <i>Taraxacum officinale</i> .....	57
5.4. Extracto de <i>Paeonia suffruticosa</i> .....	58
5.5. Extracto de <i>Vitis vinifera</i> .....	58
5.6. Extracto de <i>Linum usitatissimum</i> .....	59
5.7. Extracto de <i>Angelica shikokiana</i> .....	60
5.8. Extracto de <i>Diospyros kaki</i> L.....	61
5.9. Extracto de <i>Lycium barbarum</i> L. ....	63
6. Extractos naturales con actividad antiplaquetaria y fibrinolítica .....	68
6.1. Extracto de <i>Lagenaria siceraria</i> .....	68
7. Extractos naturales con actividad anticoagulante, antiplaquetaria y fibrinolítica.....	69
7.1. Extracto de <i>Campomanesia xanthocarpa</i> .....	69
7.2. Extracto de <i>Clerodendrum colebrookianum</i> .....	71
9. Potencial terapéutico de los distintos extractos naturales .....	74
<b>CONCLUSIONES</b> .....	76
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	77

## INDICE DE TABLAS Y FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Fármacos antitrombóticos.....	14
<b>Tabla 1:</b> Extractos naturales con actividad anticoagulante .....	22
<b>Tabla 2:</b> Extractos naturales con actividad antiplaquetaria .....	45
<b>Tabla 3:</b> Extractos naturales con actividad fibrinolítica .....	54
<b>Tabla 4:</b> Extractos naturales con actividad anticoagulante y antiplaquetaria.....	64
<b>Tabla 5:</b> Extractos naturales con actividad antiplaquetaria y fibrinolítica .....	69
<b>Tabla 6:</b> Extractos naturales con actividad anticoagulante, antiplaquetaria y fibrinolítica	72

## RESUMEN

La trombosis, que ocurre producto de un desequilibrio en la hemostasis, es una patología de gran relevancia dentro de las enfermedades cardiovasculares (ECV), que a su vez son la principal causa de muerte a nivel mundial. Se sabe que algunos de los fármacos empleados para el tratamiento y prevención de la trombosis son capaces de ocasionar efectos adversos. En este contexto surgen nuevas investigaciones destinadas a estudiar y desarrollar nuevos fármacos antitrombóticos que posean mayor eficacia. Existe un gran número de estudios enfocados en determinar el potencial antitrombótico de diferentes extractos de origen natural. En este trabajo, se ofrece una revisión bibliográfica que tiene como propósito entregar información actualizada respecto a diversos extractos de origen natural y componentes aislados desde los mismos. Se incluye parte de su historia, usos tradicionales y se le da el enfoque principal al estudio de su actividad antitrombótica y el descubrimiento, en muchos de ellos, de un importante potencial terapéutico, dando cabida a evaluar posibles oportunidades futuras de investigación.

**Palabras clave:** Trombosis, extractos naturales, actividad antitrombótica, anticoagulantes, antiplaquetarios, fibrinolíticos.

## INTRODUCCIÓN

Las enfermedades cardiovasculares (ECV) corresponden a un conjunto de trastornos asociados tanto al corazón como a los vasos sanguíneos. Según la organización mundial de la salud éstas son la principal causa de defunción a nivel mundial (1). En Chile la situación es similar, ya que la principal causa de muerte son las ECV, constituyendo un 27,1% del total de defunciones en el año 2016 (2).

La trombosis es un trastorno vascular que se presenta cuando existe la formación de un trombo el cual bloquea de forma total o parcial el interior de un vaso sanguíneo generando isquemia y consecuente daño en los órganos afectados. Esto puede afectar diferentes zonas anatómicas siendo las más frecuentes el corazón, el cerebro y las extremidades (3).

Existen diversos tratamientos destinados a evitar o disminuir el posible daño generado a causa de eventos tromboticos. De esta manera se encuentran las terapias farmacológicas con fines anticoagulantes, antiagregantes o trombolíticos, mientras que por otro lado está el uso de dispositivos mecánicos para la eliminación del trombo (4). Si bien el empleo de fármacos suele resultar efectivo, también puede generar efectos adversos en el organismo. Existen múltiples informes en los que se señalan complicaciones tales como hemorragias digestivas y úlceras gastrointestinales que pueden surgir como consecuencia del uso de aspirina y otros antiagregantes plaquetarios (5, 6).

Debido a lo antes mencionado surge la necesidad de buscar alternativas seguras, efectivas y económicas, dirigidas tanto a la prevención como al tratamiento de la trombosis.

Con el fin de encontrar tratamientos menos nocivos, en los últimos años ha existido una creciente exploración de componentes de la medicina tradicional (7). La medicina tradicional ha formado parte de las diferentes culturas a lo ancho del mundo y de la historia, donde ha sido registrado el uso de plantas y otros compuestos naturales para combatir distintas enfermedades. Al presente, su uso sigue vigente en la población de países

desarrollados o en vías de desarrollo, ya sea para el tratamiento como para la prevención de diferentes padecimientos (8).

En lo que respecta a trombosis, se ha desarrollado gran número de trabajos que muestran evidencia de la actividad antitrombótica de distintos extractos naturales. Considerando lo anterior nos propusimos realizar una revisión actualizada y completa de estudios que señalen la presencia de actividad antitrombótica en extractos naturales, para así explorar el potencial terapéutico de fuentes naturales y evaluar futuras oportunidades de investigación.

## **OBJETIVO**

### **1. OBJETIVO GENERAL**

- 1.1.** Realizar una búsqueda actualizada y completa sobre el uso de extractos naturales para prevenir la trombosis

### **2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- 2.1.** Evaluar origen y causas de los eventos trombóticos.
- 2.2.** Identificar extractos naturales con potencial antitrombótico.
- 2.3.** Proponer posibles fuentes naturales con potencial terapéutico.

## **METODOLOGÍA DE BÚSQUEDA Y ORGANIZACIÓN DE LA INFORMACIÓN**

Se realizó una revisión en la literatura de artículos de carácter científico relacionados con el tema de estudio, tanto artículos de investigación como revisiones bibliográficas.

### **1. Búsqueda de la información**

La búsqueda se realizó a través de las bases de datos bibliográficos Pubmed, ScienceDirect y GoogleScholar incluyendo artículos en inglés y español, y las palabras clave extractos naturales, trombosis y enfermedades cardiovasculares, en ambos idiomas.

### **2. Selección de la información**

Se consideraron artículos sobre el estudio de actividad antitrombótica publicados entre 2010 y 2020. Para la selección de los artículos se revisó el resumen y el artículo completo, con el fin de identificar si el artículo será de utilidad en la investigación. Para la información complementaria no hubo límite de años en los artículos empleados.

### **3. Organización de la información**

Los artículos seleccionados se clasificaron según título, fecha de la publicación, país de origen, palabras claves, y un resumen del artículo que contenía nombre del extracto estudiado, objetivo del estudio, metodología, principales resultados obtenidos y conclusiones. Se utilizó el gestor bibliográfico EndNote para la generación de la bibliografía.

### **4. Análisis de la información**

Se analizarán los diferentes artículos científicos seleccionados. La información relevante que corresponda a un determinado extracto natural será agrupada. Además, los resultados se expresarán en tablas y gráficos.

## ABREVIATURAS

**6-ceto-PGF1 $\alpha$** : 6-ceto-prostaglandina F1 $\alpha$

**AA**: Ácido araquidónico

**ADP**: Adenosín difosfato

**ATP**: Adenosín trifosfato

**AAS**: Ácido acetilsalicílico

**COX**: Ciclooxigenasa

**EAC**: Enfermedad de la arteria coronaria

**ECV**: Enfermedades cardiovasculares

**eNOS**: Óxido nítrico sintasa

**ERK**: Quinasas reguladas por señales extracelulares

**FIB**: Fibrinógeno

**GP**: Glicoproteína

**IC<sub>50</sub>**: Concentración inhibitoria media máxima

**LDH**: Lactato deshidrogenasa

**MAPK**: Proteína quinasas activadas por mitógenos

**PAF**: Factor activador de plaquetas

**PI3K**: Fosfatidilinositol 3-quinasas

**PKC**: Proteína quinasa C

**PLC**: Fosfolipasa C

**PMA**: Miristato de forbol acetato

**PPP**: Plasma pobre en plaquetas

**PRP**: Plasma rico en plaquetas

**TP**: Tiempo de protrombina

**TRAP-6**: Activador del receptor de trombina para el péptido 6

**TTPa**: Tiempo de tromboplastina parcial activado

**TxA<sub>2</sub>**: Tromboxano A 2

**TxB<sub>2</sub>**: Tromboxano B 2

## MARCO TEÓRICO

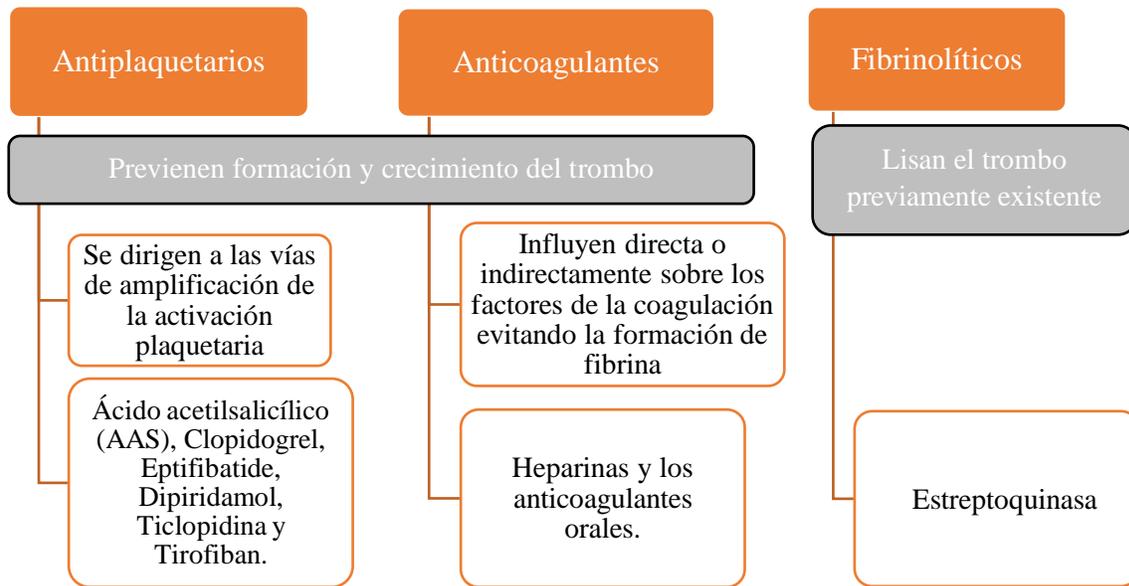
### 1. Eventos trombóticos

Los eventos cardiovasculares son las enfermedades crónicas no transmisibles que más preocupación causan en la salud pública a nivel mundial, figurando como la principal causa de muerte y morbilidad, lo cual trasciende el ámbito sanitario y tiene implicancia en la economía global (9, 10).

Dentro de este conjunto de enfermedades, los eventos trombóticos tienen gran relevancia. Se estima que 1 de cada 4 personas en todo el mundo muere a causa de una enfermedad arterial coronaria, evento vascular cerebral o tromboembolia venosa. La incidencia de la tromboembolia venosa es alta, más aún en las personas de mayor edad. Por esto, considerando el envejecimiento de la población mundial entre otros factores, el interés de reducir la carga de esta enfermedad crece (11, 12).

La trombosis, como estado patológico, surge a causa de un desbalance en los procesos hemostáticos que tiene como consecuencia la formación de un trombo. Este puede ocluir el flujo a través de un vaso sanguíneo no permitiendo la irrigación del sitio afectado. La generación de este trombo se produce debido a una activación inadecuada del sistema de la coagulación. Existe una triada de factores que favorecen la aparición de un trombo: la estasis circulatoria, la lesión en la pared vascular y un estado hipercoagulable (13).

Para evitar los posibles daños asociados a la trombosis, para esto es necesario el uso de fármacos antitrombóticos que se pueden clasificar en tres clases tal como lo muestra la **Figura 1** (14).



**Figura 1: Fármacos antitrombóticos**

**Fuente:** Elaboración propia, Urrutia, M. (2021)

Estos fármacos a pesar de ser efectivos generan efectos adversos en el organismo siendo el más recurrente la presencia de hemorragias; tanto en el uso de Heparinas, Dipyridamol, Ticlopidina (14).

Frente a complicaciones como la cardiopatía isquémica, fibrilación auricular o cirugía valvular cardíaca, se suele administrar una terapia triple donde se combina el ácido acetilsalicílico (AAS), un inhibidor de P2Y12 y anticoagulante oral (15). En aquellos pacientes bajo este tratamiento se ha reportado una predisposición importante a complicaciones hemorrágicas mayores (16). Se ha informado, además, la presencia de hematuria como consecuencia del uso de medicamentos antitrombóticos (17), y se ha visto que aquellos pacientes que presentan disfunción renal o hepática, bajo tratamientos anticoagulantes, tienen más riesgo de presentar hemorragias (18).

En los últimos años han se han desarrollado múltiples estudios referentes a indagar el potencial antitrombótico de extractos obtenidos de distintas especies los cuales podrían ser objeto de estudios futuros, para así evaluar la posibilidad de encontrar terapias antitrombóticas con efectos menos nocivos.

## **2. Extractos naturales con actividad anticoagulante**

### **2.1. Extracto de *Thymus atlanticus***

*Thymus atlanticus* es una especie de tomillo que se distribuye por el noroeste del continente africano, específicamente Marruecos. Esta planta se ha utilizado desde la antigüedad para el tratamiento de enfermedades crónicas, tales como diabetes mellitus, enfermedades cardiacas e hipertensión (19).

El ácido rosmarínico presente en esta especie, destaca debido a su alto contenido y su capacidad antioxidante. Los polifenoles apigenina-7-glucósido, hiperósido, ácido cafeico, rutina, ácido gálico y quercetina también se encuentran en esta especie (20).

Extractos de *T. atlanticus* obtenidos mediante diferentes métodos de extracción (decocción, maceración y técnicas de Soxhlet), han demostrado tener efecto sobre la inhibición de la síntesis de fibrinógeno (FIB) y las vías extrínseca e intrínseca de la coagulación. La actividad antitrombótica evaluada en plasma humano mostró un tiempo de tromboplastina parcial activado (TTPa) prolongado en presencia de los extractos e inclusive una inhibición completa de la coagulación a la concentración más elevada utilizada (19). Otro estudio reciente ha evaluado la actividad anticoagulante, *in vivo* e *in vitro*, de un extracto acuoso de las hojas y de una fracción polifenólica aislada. Para el estudio *in vivo* se administraron dosis del extracto acuoso o fracción polifenólica a ratas. Al evaluar TTPa, tiempo de tromboplastina (TP) y tiempo de trombina (TT), se obtuvo una prolongación dosis dependiente significativa. *In vitro* se evaluó TTPa, TP y TT, en plasma de ratas incubado con

el extracto a diferentes concentraciones (10, 20, 40, 80 y 160 µg/mL) quedando en evidencia una prolongación en estos parámetros, donde a 160 µg/ml el extracto y la fracción polifenólica inhibieron completamente la coagulación de la sangre en todas las pruebas (20).

## **2.2.Extracto de *Dendropanax morbifera***

*Dendropanax morbifera* es un árbol de hoja perenne nativo de la península coreana y distribuido principalmente en la región suroeste de Corea del Sur. Hay registros de su uso en la medicina tradicional coreana en escritos que datan del siglo XVII, en los que se le atribuía la cualidad de mejorar la circulación sanguínea, entre otras acciones terapéuticas (21, 22).

En el estudio de los principales componentes de sus hojas destaca la presencia de compuestos fenólicos activos, tales como rutina, ácido clorogénico, quercetina, catequina, ácido ferúlico, miricetina, entre otros (23).

Dentro de los compuestos fenólicos mencionados, la rutina ha sido aislada a fin de estudiar su actividad antitrombótica. Se ha encontrado que este compuesto inhibe la formación de coágulos de fibrina, debido a un cambio en la estructura o composición de la red de fibrina que afectaría su sensibilidad frente a la trombina (21, 24). En estudios realizados *in vitro* e *in vivo*, la rutina aislada de un extracto etanólico de las hojas de *D. morbifera*, redujo la actividad de la trombina y la formación de trombos. *In vitro*, inhibió la formación de coágulos de fibrina, disminuyendo su peso y densidad. A 0,55 mM, la rutina prolongó 2 y 1,8 veces el TTPa y TP, respectivamente, en sangre completa incubada con el extracto. *In vivo*, tras inducir tromboembolismo agudo con colágeno (250 mg/mL) y epinefrina (150 mg/mL), se encontró que la rutina protegió a los ratones del desafío trombótico en un 50%, y el 80% de los animales sobrevivieron al administrarles dosis de 8 y 16 mg/kg de rutina. La función plaquetaria se midió en un analizador de función plaquetaria (PFA-100), donde se demostró la capacidad de la rutina de inhibir la activación plaquetaria (21). Por otro lado, estudios toxicológicos han llegado a la conclusión de que no ejerce clastogenicidad, según un ensayo de aberración cromosómica *in vitro* y de micronúcleos *in*

*vivo*. Tampoco hubo presencia de otros efectos adversos relacionados a la dosis de *D. morbifera*. (25).

### **2.3. Extracto de *Cydonia oblonga***

El membrillo, como se conoce comúnmente al fruto de *Cydonia oblonga*, ha estado presente a través de la historia, donde se tienen registros de su uso en la antigua Grecia y en la medicina tradicional China. Se cree que es originaria de la región del Cáucaso, aunque actualmente se distribuye mundialmente (26). Las frutas, hojas, raíces, ramas y otras partes de esta especie han sido utilizadas en la medicina tradicional para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares entre otras dolencias (26, 27).

Respecto a la composición química, *C. oblonga* presenta ácidos orgánicos, tales como los ácidos cítricos, málico, quínico, siquímico y fumárico en frutas y hojas. También presenta algunos compuestos fenólicos como los ácidos mono y dicafeoilquínico, junto con quercetina y derivados de kaempferol presentes en los frutos y hojas del membrillo. Posee también azúcares, aminoácidos libres y aceites esenciales (26).

Se han descrito efectos antitrombóticos en ratones tratados con distintas dosis de un extracto acuoso de hojas secas y trituradas de esta especie. Se midió el tiempo de sangrado de la cola, encontrando una prolongación significativa de este parámetro, siendo a dosis de 80 mg/kg/día superior a la AAS. A dosis bajas, medias y altas (20, 40 u 80 mg/kg/día) del extracto, se prolongó el tiempo de coagulación, y nuevamente superó al tratamiento con AAS. En los ratones tratados con dosis de 80 mg/kg/día se inhibió significativamente la mortalidad por tromboembolia pulmonar inducida por colágeno y epinefrina (10 mg/kg/día). El tratamiento con el extracto también redujo el peso de trombos formados *in vivo* por la inducción con FeCl<sub>3</sub>, con tasas de trombólisis superiores a 45%. En cuanto al mecanismo de acción, se señaló que el extracto actuaría disminuyendo las concentraciones plasmáticas de Tromboxano B<sub>2</sub> (TxB<sub>2</sub>) y aumentando las de 6-ceto-prostaglandina F<sub>1</sub>α (6-ceto-PGF<sub>1</sub>α) (28).

## **2.4. Extracto de *Malus halliana* Koehne**

*Malus halliana* es un árbol originario de Asia oriental, que se distribuye principalmente a través de diferentes regiones geográficas de China. Es en este mismo país, donde sus flores han sido utilizadas con distintos fines, tales como su uso en la medicina tradicional china para el tratamiento de metrorragia (29). Otros estudios farmacológicos han demostrado que *M. halliana* posee propiedades biológicas tales como, protección hepática, actividad antioxidante, inhibición de las enzimas  $\alpha$ -glicosidasa *in vitro* (30-32).

Dentro de la composición química de sus flores destaca la presencia de polifenoles, como: limocitrina-3-O-glucósido, baohuosido II, floretina-4'-O-glicosidasa y afzelósido kaempferol-3-O- $\alpha$ -L-furano arabinósido (32).

Un extracto metanólico de las flores de *M. halliana* Koehne mostró actividad anticoagulante en sangre extraída de la oreja de conejos machos tratados con fracciones del extracto obtenidas por cromatografía con metanol acuoso (0%, 20%, 40% y 60% y luego metanol puro). La presencia del extracto total prolongó TT y TTPa, pero acortó el TP. La fracción al 60%, prolongó TTPa, TP y TT, pero aumentó el contenido de FIB. Mientras tanto, la fracción al 40% prolongó el TT, TP, pero acortó TTPa. Por otro lado, los compuestos aislados desde el extracto prolongaron los parámetros de la coagulación y disminuyeron el contenido de FIB de manera efectiva *in vitro*. Uno de estos compuestos, afzeloside, también mostró actividad antitrombótica *in vivo* al disminuir los niveles de endotelina 1, aumentar los niveles de eNOS, regular el equilibrio de  $\text{Tx}B_2/6$ -ceto-PGF1 $\alpha$  y disminuir la viscosidad de la sangre (32).

## **2.5. Extracto de *Momordica charantia***

*Momordica charantia* o calabaza amarga es un vegetal que se encuentra distribuido en regiones tropicales y subtropicales, principalmente en China, India, África Oriental y

América Central y del Sur, y se encuentra relacionado a la medicina tradicional debido a su uso en el tratamiento de la diabetes y sus complicaciones (33, 34).

En su composición química destacan la presencia de triterpenos y saponinas, pero también presenta flavonoides, alcaloides, polisacáridos, esteroides, proteínas y péptidos. Algunos compuestos fenólicos de importancia de esta especie son la catequina y epicatequina; además de los ácidos gálico, protocatechico, gentístico, , vainílico y siríngico, *p*-cumárico, benzoico, sinapínico, *o*-cumárico, clorogénico, *t*-cinámico y *t*-ferúlico (35, 36).

El potencial anticoagulante de la semilla de *M. charantia* ha sido estudiado utilizando un extracto que provenía de las semillas, molidas, homogeneizadas con agua bidestilada, y centrifugadas para utilizar el sobrenadante sin proteínas. El extracto aumentó significativamente el tiempo de coagulación en plasma humano a concentraciones de 10 µg/ml. *In vivo*, la inyección intravenosa del extracto prolongó el tiempo de sangrado de cola de ratón significativamente y dependiente de la dosis. A través de la medición de TTPa se confirmó que el efecto se ejercía sobre la vía intrínseca, debido a la prolongación de este parámetro. El mismo estudio evaluó la actividad tóxica del extracto, determinando que no generaba hidrólisis de los glóbulos rojos ni provocaba hemorragia (37).

## **2.6. Extracto de *Cercis chinensis***

Esta especie se encuentra distribuida al sureste de China y en la medicina tradicional de dicho país figura debido a las propiedades atribuidas a la corteza, madera, frutos y flor de este árbol, tales como la promoción de la circulación sanguínea, desintoxicación, alivio de hinchazón, dolor, reumatismo y tos (38, 39).

Los compuestos bioactivos de esta especie, flavonoides y polifenoles, se presentan principalmente en los frutos. Algunos de los compuestos fenólicos que se han aislado son la catequina, antocianina, miricitrina, miricetina, resveratrol, piceatanol, isoliquiritigenina,

liquiritigenina, 2',4'-dihydroxy-4-methoxychalcona, afzelin, ácido gálico, galato de metilo, epigallocatequina-3-O-galato, y derivados de lyoniresinol (38, 40, 41).

Al aislarse los compuestos presentes en las hojas de esta especie, la miricitrina destacó por ser uno de los más abundantes. Este compuesto fue estudiado a partir de un extracto etanólico eluido y procesado hasta obtener la miricitrina. A concentraciones de 5 mg/mL y 2,5 mg/mL de miricitrina, se presentó un efecto en la prolongación de TT, TP y TTPa. *In vivo*, también existió prolongación de estos parámetros en ratas tratadas con dosis de 10 mg/kg y 5 mg/kg, aunque en este caso hubo un aumento en los niveles de FIB. A estas mismas concentraciones se aumentaron los niveles de 6-ceto-PGF<sub>1α</sub> y eNOS; mientras que disminuyó el nivel de FIB, TxB<sub>2</sub>, endotelina-1, sedimentación sanguínea, hematocrito, viscosidad de sangre total y viscosidad del plasma (38).

## **2.7. Extracto de *Artemisia dracunculus***

*Artemisia dracunculus* o estragón, es originaria del este de Siberia y Mongolia, y se distribuye alrededor del mundo donde crece de forma salvaje en prados, cerca de bosques, laderas de valles y estepas (42). Ha estado presente en la dieta de países de oriente medio desde hace siglos y en la medicina popular donde destacan los beneficios sobre la función del tracto gastrointestinal y la acción diurética (43).

Dentro de su composición se encuentran aceites esenciales, cumarinas, flavonoides y ácidos fenolcarbónicos. Los aceites esenciales contienen sesquiterpenos, monoterpenos, compuestos aromáticos, poliacetilenos e isocumarinas vitaminas y alcaloides (42).

Extractos obtenidos a partir de sucesivas extracciones con n-hexano, cloroformo, metanol y decocción, se utilizaron para estudiar la actividad anticoagulante de esta especie. En este estudio se comparó la cantidad de compuestos cumarínicos que poseían los extractos metanólicos, de cloroformo y de agua, y los efectos que cada uno ejercía sobre la coagulación midiendo TP. Los extractos exhibieron actividad anticoagulante aumentando el TP, pero fue

el extracto de metanol el que registró la mayor actividad anticoagulante a una concentración del 5%. Se concluyó que, a mayor cantidad de ácido cumárico en el extracto, mayor será su capacidad anticoagulante. Estudios anteriores a este han demostrado efectos anticoagulantes, pero en plaquetas aisladas (43-45).

## **2.8. Extracto de *Carthamus tinctorius***

El origen del cartamo se encuentra en el sur de Asia. Su crecimiento se da en regiones que poseen climas cálidos y secos (46). Se le han atribuido propiedades medicinales como su capacidad purgante, analgésica, antipirética, función de antídoto frente a intoxicaciones, tratar menstruación dolorosa, hemorragia posparto y osteoporosis (46).

Se han aislado más de 200 compuestos, dentro de los que hay flavonoides, glucósidos feniletanoides, cumarinas, ácidos grasos, esteroides y polisacáridos. Algunos de estos son cartamidina, cartamina, isocarthamidina, quercetina, kaempferol, 6-hidroxicaempferol, la flavona luteolina, el flavonoide nicoflorina, entre otros (46, 47).

Se ha estudiado la actividad antitrombótica de un extracto acuoso de *C. tinctorius*, utilizando un modelo de rata. Las ratas fueron tratadas con diferentes dosis del extracto (20, 40 y 80 mg/kg) durante dos semanas, para luego inducir trombosis en la arteria carótida utilizando FeCl<sub>3</sub>. Los resultados obtenidos mostraron que todas las dosis redujeron el peso del trombo y aumentaron la tasa de inhibición de la trombosis significativamente y dependiente de la dosis. Resultados similares se obtuvieron al medir el tiempo de oclusión de la trombosis de la vena cava. El mecanismo sugerido estaría relacionado con la disminución en las concentraciones de TxB<sub>2</sub> y el aumento de F1 $\alpha$  6-ceto-PGF1 $\alpha$  (48).

**Tabla 1: Extractos naturales con actividad anticoagulante**

**Fuente:** Elaboración propia Urrutia, M. (2021)

Especie en estudio	Origen y/o Distribución	Usos en la medicina tradicional	Principales componentes bioactivos	Métodos de extracción	Ensayo realizado	Resultados principales	Mecanismo de acción propuesto
<i>Thymus atlanticus</i>	Marruecos	Enfermedades cardiovasculares y trombosis	Polifenoles	Decocción maceración y Soxhlet	<i>In vitro</i>	Prolongan TTPa e inhiben completamente la coagulación	Inhibe la síntesis de FIB y la actividad o producción de factores de la coagulación
				Extracto acuoso de las hojas y fracción polifenólica	<i>In vitro</i>	A 160 µg/mL inhibe completamente la coagulación	
					<i>In vivo</i>	Dosis de 100 mg/kg/día prolongan en el tiempo de coagulación de forma similar a tratamiento con AAS	
<i>Dendropanax morbifera</i>	Corea del Sur	Mejorar circulación sanguínea, enfermedades infecciosas de la piel, dismenorrea y dolor de cabeza	Compuestos fenólicos activos, dentro de los que destaca la rutina.	Extracto etanólico de las hojas	<i>In vitro</i>	Inhibe formación de coágulo. Prolonga TTPa y TP, 2,0 y 1,8 veces respectivamente a una concentración de 0,55 mM de rutina	Reduce la actividad de la trombina; inhibe la coagulación de fibrina, la agregación plaquetaria y la tromboembolia
					<i>In vivo</i>	Dosis de 8 y 16 mg/kg protegen frente a tromboembolismo inducido por colágeno y epinefrina	

Espece en estudio	Origen y/o Distribución	Usos en la medicina tradicional	Principales componentes bioactivos	Métodos de extracción	Ensayo realizado	Resultados principales	Mecanismo de acción propuesto
<i>Cydonia oblonga</i>	Medio oriente, centro y sudoeste de Asia, Sudamérica	Tratar enfermedad cutánea, cardiovascular, tos, disentería, dolor de garganta, bronquitis y diarrea	Ácidos orgánicos, compuestos fenólicos	Extracto acuoso de hojas secas y trituradas	<i>In vitro</i>	Disminuye concentración de $TxB_2$ y aumentó las de 6-ceto-PGF $1\alpha$ .	Efecto antitrombótico mediado por modulación de equilibrio PGI/Tx
					<i>In vivo</i>	Dosis de 80 mg/kg prolongan tiempo de sangrado e inhiben trombosis. Dosis de 20, 40 u 80 mg/kg/día prolongan tiempo de coagulación y reduce peso del trombo	
<i>Malus halliana</i> Koehne	Asia Oriental/China	Tratar metrorragia	Polifenoles	Extracto metanólico de las flores	<i>In vitro</i>	Fracción de metanol al 60%, prolongó TTPa, TP, TT	Modula equilibrio prostaciclina/tromboxano Efectos antitrombóticos sobre endotelio
					<i>In vivo</i>	Disminuye endotelina 1 y aumenta eNOS	
<i>Momordica charantia</i>	Asia, África y América	Tratar diabetes y sus complicaciones asociadas	Triterpenos y saponinas	Extracto acuoso de semilla	<i>In vitro</i>	A 10 $\mu$ g/ml aumentó el tiempo de coagulación. Prolongó TTPa	Interviene en la cascada de la coagulación, en la vía intrínseca
					<i>In vivo</i>	Prolonga tiempo de sangrado de cola de ratón	
<i>Cercis chinensis</i>	China	Promover circulación sanguínea; desintoxicar; aliviar la	Flavonoides y polifenoles, donde el principal es miricitina	Miricitina eluída desde extracto etanólico de las hojas	<i>In vitro</i>	A 5 mg/ml y 2,5 mg/ml prolonga TT, TP y TTPa	Efectos antitrombóticos sobre endotelio y por modulación de equilibrio PGI/Tx
					<i>In vivo</i>	Dosis de 10 mg/kg y 5 mg/kg prologó parámetros de la coagulación	

Espece en estudio	Origen y/o Distribución	Usos en la medicina tradicional	Principales componentes bioactivos	Métodos de extracción	Ensayo realizado	Resultados principales	Mecanismo de acción propuesto
		hinchazón, dolor, reumatismo y tos					
<i>Artemisia dracuncululus</i>	Siberia y Mongolia/mundial	Presente en la dieta. Empleado por su acción diurética	Aceites esenciales, cumarinas, flavonoides y ácidos fenolcarbonicos	Extracto de metanol, de cloroformo y de agua	<i>In vitro</i>	El extracto metanólico al 5% prolonga el TP	Se desconoce mecanismo de acción, se cree que los ácidos cumarínicos son los responsables
<i>Carthamus tinctorius</i>	Asia/ climas cálidos y secos	Purgante, analgésico, antipirético, purgante, dolorosos, hemorragia posparto y osteoporosis	Flavonoides, flavonas, cumarinas, esteroides, glucósidos feniletanoides, ácidos grasos	Extracto acuoso liofilizado de la planta seca	<i>In vivo</i>	Dosis de 20, 40 y 80 mg/kg reducen peso del trombo y aumentan la tasa de inhibición de la trombosis	Efecto antitrombótico mediado por modulación de equilibrio PGI/Tx

**6-ceto-PGF1 $\alpha$** : 6-ceto-prostaglandina F1 $\alpha$ , **FIB**: Fibrinógeno, **eNOS**: Óxido nítrico sintasa, **PGI**: prostaciclina, **TP**: Tiempo de protrombina, **TT**: Tiempo de trombina, **TTPa**: Tiempo de tromboplastina parcial activado, **Tx**: Tromboxano, **TxB2**: Tromboxano.

### 3. Extractos naturales con actividad antiplaquetaria

#### 3.1. Extracto de *Salvia miltiorrhiza* Bunge

*Salvia miltiorrhiza* Bunge es una planta perenne de origen en chino y japonés, donde sus raíces son conocidas como Danshen y Tanshen respectivamente. En la medicina tradicional China se utiliza en el tratamiento de la estasis sanguínea, “calor del corazón y enfriamiento de la sangre”. En la antigüedad se consumía en decocciones o píldoras, pero actualmente se han desarrollado tabletas, cápsulas, inyecciones y líquidos orales (49).

Los principales componentes bioactivos de *S. miltiorrhiza* Bunge son las quinonas diterpenoides y los ácidos fenólicos hidrofílicos, aislados a partir de las raíces. Algunos ácidos fenólicos hidrofílicos son el ácido litospérmico A, ácido litoespérmico B, ácido rosmarínico, protocatechualdehído, ácido protocatecuico, ácido cafeico y danshensu. Por otro lado, los principales componentes lipofílicos incluyen tanshinona I, tanshinona IIA, tanshinona IIB y cryptotanshinona (49, 50).

Dentro de los ácidos fenólicos hidrofílicos se ha descrito el ácido salvianólico B, un compuesto con propiedades antioxidantes, antitrombóticas y cardioprotectoras (51, 52). Se ha mostrado *in vitro* que posee la capacidad de unirse al receptor de  $\alpha_2\beta_1$ , impidiendo así su interacción con el colágeno y la adhesión plaquetaria a la matriz subendotelial a través de este mecanismo (53). Se han evaluado los efectos de un extracto de CO<sub>2</sub> supercrítico de Danshen sobre la activación plaquetaria y la lesión isquémica cerebral. *In vivo* se estudió el efecto del extracto dosis altas, medias o bajas (15 mg/kg, 7,5 mg/kg o 3,75 mg/kg), en un modelo de ratón de lesión por isquemia cerebral permanente focal, donde se evaluó la deficiencia neurológica y el tamaño del infarto cerebral. Los resultados dejan en evidencia que la administración del extracto mejoró la puntuación del defecto neurológico, aumentó el flujo sanguíneo cerebral, hubo una reducción en el tamaño del infarto y se alivió el edema cerebral. Adicionalmente, quedó en evidencia que el extracto inhibe la formación de

trombosis de la derivación arteriovenosa en ratas macho, y acorta el tiempo de recuperación en la embolia pulmonar en ratones. También se realizaron ensayos de agregación plaquetaria donde dosis de 15, 7,5 y 3,75 mg/kg del extracto, inhibieron la agregación plaquetaria *in vivo*, estimulada por adenosín difosfato (ADP, 10  $\mu$ M) y in análogo estable de tromboxano A 2 (TxA<sub>2</sub>) (3  $\mu$ M). Lo mismo ocurrió, *in vitro*, a concentraciones de 440, 44, 4,4 y 0,44 mg/L, empleando como agonistas un análogo estable de tromboxano A 2 (TxA<sub>2</sub>) (3  $\mu$ M) y ADP (10  $\mu$ M). Se señaló la inhibición de la activación de la ruta de señalización de fosfolipasa C/proteína quinasa C (PLC/PKC), como el posible mecanismo de acción del extracto (54).

### **3.2. Extracto de *Humulus lupulus***

El origen de esta especie radica en China desde donde migró hacia Japón, América y el oeste de Europa. Actualmente se distribuye por Europa Central y es cultivada ampliamente en las regiones templadas del mundo tales como (55, 56). Es conocida mundialmente por su rol en la industria cervecera. Dentro de la medicina tradicional ha sido utilizada para activar la función gástrica, tratar trastornos del sueño y como sedante suave (56).

El lúpulo, como también es conocida esta planta, presenta dentro de sus principales componentes flavonoides, como flavanoles (catequina, galocatequina, epicatequina y epigalocatequina) proantocianidinas (C2), procianidinas (B1, B2, B3, B4), prodelfinidina, flavonoles (quercetina, kaempferol y miricetina), flavanonas (naringenina) y prenilflavonoides (xantohumol) (57, 58).

Se han estudiado las características antitrombóticas de un extracto de lúpulo gastado obtenido por CO<sub>2</sub> supercrítico. Para esto se empleó plasma rico en plaquetas (PRP) y plasma pobre en plaquetas (PPP), obtenidos de humanos sanos y pacientes con enfermedad de la arteria coronaria (EAC) que estaban recibiendo tratamiento con AAS. Un ensayo de agregación plaquetaria inducida por colágeno (3,2  $\mu$ g/ml), ADP (6,4  $\mu$ mol/L) o ácido araquidónico (AA; 0,5  $\mu$ mol/L), mostró una reducción significativa de la agregación

plaquetaria inducida por ADP, dependiendo de la concentración del extracto. En la sangre de pacientes con EAC las concentraciones de 7,5 y 15 µg/ml inhibieron significativamente la agregación plaquetaria medida en sangre total. Por último, se utilizaron células endoteliales de la vena umbilical humana para determinar la actividad endotelial anticoagulante, evaluando la expresión de óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS) y la expresión de CD39 con su actividad apirasa. Los resultados dejan en evidencia que el extracto inhibe directamente la función plaquetaria y mejora la actividad anticoagulante de las células endoteliales (59). Se ha aislado un compuesto desde esta especie al cual se le atribuye la actividad antiagregante, y se ha señalado que previene la trombosis arterial y venosa, sin riesgo de hemorragia (60), lo cual confirma su potencial terapéutico.

### **3.3. Extracto de *Juglans regia* L.**

El nogal, es un árbol proveniente de Asia Central, actualmente distribuido a nivel mundial, en países que poseen las condiciones climáticas para su crecimiento. Su fruto, la nuez, es ampliamente cultivada y comercializada en el mundo. se le atribuye un gran número de propiedades medicinales, tales como el uso de sus raíces para tratar la diabetes; sus hojas para tratar dolores reumáticos, fiebre, diabetes, enfermedades de la piel; sus flores para tratar la malaria y el dolor reumático (61, 62).

La composición química varía según la parte de la planta. La cáscara de la nuez, se caracteriza por presentar glucosa y materiales orgánicos como ácido cítrico, ácido málico, fosfato y oxalato de calcio (62). Se ha descrito un alto contenido en polifenoles tales como los ácidos hidroxibenzoicos (ácido siríngico y ácido vanílico), ácidos hidroxicinámicos (ácido ferúlico y ácido cumárico), algunos flavonoles (como miricetina), kaempferol, 2,6 dimetilfenol, siringol, ácido sinápico, juglona, ácido ftálico,  $\alpha$ -tocoferol y ácido oleico (63).

El extracto de acetona de cáscara verde y seca de nuez ha demostrado inhibir la agregación plaquetaria inducida por trombina (0,25 U/ml), en PRP humano. La secreción de

proteínas, estimulada por trombina, también se ve inhibida en plaquetas tratadas con el extracto en cuestión, a concentraciones entre 25 y 200 µg/mL. Por otro lado, a una concentración de 50 µg/ml del extracto se inhibió la agregación plaquetaria inducida por trombina y la secreción de proteínas en un 50%. Se identificó en el extracto actividad antioxidante que contribuiría a regular la actividad plaquetaria. Para la evaluación de daños sufridos en la membrana plaquetaria a causa de la exposición al extracto, se realizó un ensayo de lactato deshidrogenasa (LDH), no observándose ninguna diferencia respecto al control utilizado, hasta 200 µg/mL del extracto, indicándose un efecto tóxico a partir de esa concentración experimental (63).

### **3.4. Extracto de *Rubia tinctorum* L.**

Debido a la capacidad tintórea de sus raíces secas, esta especie ha sido utilizada tanto en Europa, Oriente Medio e India, de donde es autóctona (64). El uso de sus raíces secas en la medicina tradicional es amplio, incluyendo el tratamiento de la hipertensión arterial, dolor de hígado, anemia y diarrea (65-67).

Los componentes que más destacan en esta planta son las antraquinonas como la alizarina, purpurina, munjistina, rubiadina, pseudopurpurina, nordamnacanthal, lucidina, xantopurpurina y antragalol (68). También se identificó en las raíces la presencia de polifenoles tales como, ácido rosmarínico, ácido cinámico, quercetina y vainillina, atribuyéndosele a esta última capacidad antiagregante (66).

El extracto butanólico de la raíz de esta especie, ha mostrado tener propiedades antitrombóticas *in vitro* y *ex vivo*. *In vitro*, utilizando plaquetas de rata lavadas, se ha observado que el extracto inhibe de forma dosis dependiente la agregación plaquetaria inducida por colágeno (2 µg/ml), previo tratamiento con el extracto a concentraciones 250 µg/ml, 500 µg/ml y 1000 µg/ml. *Ex vivo*, se estudió si el extracto cambiaba los parámetros funcionales de las plaquetas, midiendo el tiempo de sangrado de la cola y el recuento de

plaquetas en ratas. Como resultado se obtuvo una prolongación significativa en el tiempo de sangrado, de manera similar al AAS y sin cambiar el recuento de plaquetas. Otro aspecto para considerar es que el extracto no presentó toxicidad aguda en ratones expuestos a dosis de 0,5, 1, 2, 3,5, 5 g/kg (66). El mecanismo de acción por el cual actúa este extracto está dado por su contenido fitoquímico, principalmente la vainilla, que inhibe a la ciclooxigenasa (COX). Mientras tanto, otros han informado que la quercitina, la rutina y el ácido rosmarínico, también podrían ser responsables de actividad anticoagulante (66, 69-71).

### **3.5. Extracto de *Allium cepa* L.**

La cebolla o *Allium cepa*, es una especie es conocida y utilizada tanto en la gastronomía como en la medicina tradicional, donde ha destacado su uso frente a enfermedades infecciosas. Además, ha demostrado tener propiedades anticolésterol, hipolipidémicas, antidiabéticas, antiinflamatorias, antibióticas y anticancerígenas (72).

Dentro de los principales componentes bioactivos de la parte bulbar de esta especie se encuentran fructanos, compuestos azufrados y compuestos fenólicos, tales como los flavonoides quercetina y kaempferol; y los derivados del ácido fenólico, los ácidos cafeico y ferúlico. También posee ácidos grasos, oxilipinas, dipéptidos y aminoácidos (73).

La parte bulbar de *A. cepa* ha mostrado propiedades antitrombóticas *in vitro* e *in vivo*. *In vitro* e *in vivo*, en ratones muestran presencia de actividad trombolítica y antiplaquetaria en presencia de filtrados de cebolla. La variedad de cebolla que destacó en estos aspectos fue la variedad Toyohira (74). La piel exterior de la cebolla se caracteriza por poseer mayor cantidad de quercetina, convirtiéndola en un blanco de estudios para determinar su actividad antitrombótica. Se ha estudiado la actividad antitrombótica de un extracto obtenido por extracción con etanol y posterior liofilización de piel de cebolla. Dicho extracto inhibió la agregación plaquetaria inducida por colágeno (5 µg/ml), dependiente de la dosis en las concentraciones 50, 100 y 500 µg/ml con una concentración inhibidora media máxima (IC<sub>50</sub>)

de 80,0 mg/mL. Bajo estas mismas concentraciones, hubo una disminución en los niveles intracelulares de calcio y en la producción de TxA<sub>2</sub> debido a la inhibición de tromboxano A sintasa y COX-1. En estudios *in vitro* adicionales se midió la liberación de LDH determinándose que el extracto de piel de cebolla no ejercía toxicidad en las plaquetas (75).

### **3.6. Extracto de *Crataegus pinnatifida***

El espino chino, pertenece al género *Crataegus* y a la familia de las rosáceas que engloba más de 200 especies distribuidas a nivel mundial, principalmente en Asia Oriental, Europa y América del Norte (76). En la medicina tradicional destaca el uso de sus frutos en la mejora de la digestión, promoción de la circulación y resolución de la estasis sanguínea (77).

Sus hojas presentan monoterpenos y flavonoides, destacando en este último grupo el ácido clorogénico, epicatequina, catequina y procianidina B2. Otros compuestos fenólicos que se pueden encontrar son ácido gálico, ácido protocatecuico, ácido cafeico, ácido vainílico, ácido siríngico, ácido *p*-cumárico, ácido ferúlico, ácido cinámico, cloruro de cianidina, rutina, luteolina, quercetina, kaempferol, naringenina y floretina, (77, 78).

Las propiedades antitrombóticas de las hojas de esta especie se han presentado tanto *in vitro* como *in vivo*. Se ha estudiado la actividad antitrombótica de 15 fracciones diferentes obtenidas desde un extracto etanólico de hojas secas de *C. pinnatifida*. A partir de una concentración de 400 µg/mL, el total de fracciones fue inhibió marcadamente la agregación plaquetaria inducida por ADP (10 µmol/L) en PRP obtenido de una rata, igual que el extracto de etanol, lo que sugiere que es por la vía del ADP que ejerce acción. El ensayo *in vivo* se realizó en un pez cebra transgénico, en el que se empleó FeCl<sub>3</sub> (1ppm) para inducir trombosis, los resultados mostraron que tres de las fracciones inhibían la producción de trombos (77).

### **3.7. Extracto de *Crataegus monogyna* y *Crataegus davisii***

*Crataegus* tiene su origen en zonas templadas de América del Norte, Asia Oriental, Asia Central y Europa. En la medicina tradicional China se empleaban los frutos para mejorar la circulación, eliminar la estasis sanguínea y tratar la indigestión, la diarrea, el dolor abdominal, la hiperlipidemia y la hipertensión, mientras que en Europa se utilizaban los frutos, hojas y flores para tratar problemas cardíacos y en América se usó para tratar problemas respiratorios como tos, gripe, bronquitis y asma (79-81).

La composición de frutos, hojas y flores está dada por flavonoides, ácidos orgánicos o fenólicos, azúcares, terpenos, y aceites esenciales. Dentro de los ácidos orgánicos y fenólicos destacan el málico, cítrico, succínico, ascórbico, tartárico, quínico, protocatechico, 3- y 4-hidroxibenzoico, salicílico y ácido siríngico (79).

El estudio de sus propiedades antitrombóticas se ha realizado con reducidas especies de *Crataegus* (82-84). *In vivo*, se comparó la actividad antitrombótica de extractos etanólicos liofilizados de *C. monogyna* y *C. davisii*, administrando dosis de 100, 200 y 300 mg/kg a ratones, y posteriormente induciendo trombosis con carragenina. El tratamiento disminuyó significativamente la longitud de la trombosis de cola en los ratones tratados, en el caso de *C. monogyna* a las 24 horas post tratamiento, aunque estos valores fueron en decadencia pasadas 48 y 72 horas; *C. davisii* tuvo un efecto mayor, pero a dosis más bajas, donde se debió agregar una dosis menor (50 mg/kg) para comprobar su eficacia, mientras que a dosis más altas el resultado no fue significativo. El mecanismo es desconocido y estudios futuros podrían ayudar a dilucidarlo (85).

### **3.8. Extracto de *Piper wallichii***

*Piper wallichii* es un arbusto perteneciente a la familia Piperaceae que se encuentra distribuida principalmente en China, Nepal, India, Bengala e Indonesia. En la medicina tradicional de estas regiones sus frutos se utilizan para tratar el resfriado, la tos y como

estimulante uterino, mientras que los tallos se han empleado para el tratamiento de la artritis reumatoide, enfermedades inflamatorias, infarto cerebral y angina de pecho (86, 87).

Se ha estudiado la actividad antitrombótica de los lignanos presentes en el tallo de *P. wallichii*, los cuales son conocidos por tener actividad antagonista del receptor del factor activador de plaquetas (PAF). A partir de un extracto metanólico del tallo de *P. wallichii* se aislaron estos compuestos para evaluar sus características antitrombóticas. La agregación plaquetaria se estudió empleando PAF (40 ng/mL) como agonista y PRP de conejo incubado con el extracto. Dentro de los compuestos aislados, el que inhibió más la agregación plaquetaria fue el medioresinol, que a una concentración de 0,50 mM exhibió  $52,7 \pm 4,0\%$  de agregación y  $16,8 \pm 6,1\%$  de inhibición de la agregación. *In vivo*, se empleó un modelo de pez cebra, en el que se indujo la formación de un trombo con AA. En este ensayo algunos de los compuestos aislados mostraron efectos antitrombóticos a concentraciones de 30  $\mu$ M, no existiendo efectos citotóxicos sobre el pez cebra. Los compuestos que evidenciaron actividad *in vitro* fueron tres lignanos conocidos, siringaresinol, medioresinol y epipinoresinol, y dos compuestos fenólicos, sinapil aldehído y 3'5'-dimetoxibifenilo-3,4'- diol. Mientras que, *in vivo*, fue siringaresinol el compuesto que mostró mayores efectos antitrombóticos (87).

### **3.9. Extracto de *Eisenia bicyclis***

El uso de las algas marinas figura tanto en la medicina tradicional como en la dieta de aquellos países asiáticos donde se distribuye, tales como Japón, China y Corea, donde es un recurso muy utilizado en la gastronomía. Por otro lado, también se le han atribuido características hepatoprotectoras, antialérgicas, antidiabéticas y un efecto antioxidante (88).

Dentro de los principales componentes bioactivos se encuentran compuestos fenólicos como las florotaninas, el eckol, el florofucofroeckol A, el dieckol y el 8,8'-bieckol, además contiene polisacáridos, pirofeofitina, péptidos y oxilipina (89, 90).

El estudio de la actividad antitrombótica se ha realizado a partir de un extracto metanólico que se sometió a cromatografía para aislar una fracción activa. Con esta última se trataron plaquetas lavadas de rata para evaluar los efectos *in vitro* del extracto sobre la agregación plaquetaria. La agregación plaquetaria se vio inhibida al utilizar los agonistas colágenos (2,5 µg/ml), trombina (0,1 U/ml) y ADP (10 µM), encontrando la mayor inhibición en el caso del ADP. Al estudiar más esta inhibición, se señaló que el extracto bloqueaba la movilización de  $[Ca^{2+}]$ . Por otro lado, también inhibió significativamente la liberación de adenosín trifosfato (ATP), la expresión de *p*-selectina, la retracción del coágulo y la unión de FIB a la integrina  $\alpha IIb\beta 3$  de manera dosis dependiente. Se señaló que además inhibía la activación de las vías proteína quinasas activadas por mitógenos (MAPK) y fosfatidilinositol 3-quinasa (PI3K)/Akt-p38, la fosforilación de Src y PLC $\gamma 2$ . *In vivo* se destacó la capacidad, significativa y dependiente de la dosis, de inhibición de la formación de trombos del extracto, frente a dosis de 100 mg/kg y 200 mg/kg dadas a un modelo de rata de trombosis de la derivación arteriovenosa. Finalmente se postuló que a través de la modulación de la vía P2Y12 inhibiría la formación de trombos (90).

### **3.10. Extracto de *Lindera obtusiloba***

Esta especie es nativa de Asia, específicamente de Corea y China. Distintos tratados de medicina tradicional de dichos países señalan que esta especie tendría propiedades que le permitirían tratar la estasis sanguínea y la inflamación (91).

La composición de los tallos y hojas está dada principalmente por lactonas, lignanos, fitoesteroles, butanolides, glucósidos flavonoides dentro de los que se encuentra quercitrina y afzelina. (92-97).

Tanto las hojas como los tallos han demostrado tener efectos antitrombóticos. *In vitro*, un extracto etanólico de los tallos de *L. obtusiloba*, inhibió la agregación plaquetaria inducida por los agonistas colágeno (20 µg/mL) y ADP (20 µM) en PRP, a una concentración de 1

mg/mL, con un IC<sub>50</sub> menor en el caso de la estimulación por ADP ( $0.4 \pm 0.1$  mg/mL). *In vivo* el mismo extracto, a dosis de 400 mg/kg, inhibió la tromboembolia pulmonar inducida por colágeno y epinefrina en un modelo de ratón (98). Otro extracto etanólico obtenido de las hojas de esta especie inhibió de la agregación plaquetaria inducida por colágeno (2 µg/ml), ADP (10 µM), AA (100 µM) y trombina (0,2 U/mL) en PRP de rata tratado con el extracto, con un IC<sub>50</sub> 0,48, 0,48, 0,44 y 0,49 mg/mL respectivamente. *Ex vivo*, el extracto inhibió la agregación plaquetaria frente a los agonistas colágeno, ADP, y AA, en plaquetas de ratas tratadas con dosis de 200 y 400 mg/kg. Por otro lado, la formación de TxB<sub>2</sub> inducida por colágeno también fue inhibida a concentraciones de 0,1, 0,3, 1 mg/mL del extracto (99).

### **3.11. Extracto de *Toxicodendron vernicifluum***

*Toxicodendron vernicifluum*, antes conocida como *Rhus verniciflua* es una especie con origen y distribución en países del este asiático. Sus hojas secas y molidas han sido utilizadas para tratar hemorragias traumáticas y ulceraciones, mientras que las flores eran utilizadas en los niños para tratar hidrocefalia e hinchazón (100).

Dentro de su composición se presentan flavonoides, ácidos fenólicos y urshioles. Algunos flavonoides y flavonas que se han aislado de esta especie; la fisetina, la quercetina, 3,4', 7,8-tetrahidroxiflavona, kaempferol y algunos de sus derivados, kumatakenina B, crisina, miricetina, 3,4'-dihidroxiflavona, rhoifolina, robinina y agatisflavona, entre otros. También presenta ácidos grasos y polisacáridos (100).

Se han aislado compuestos bioactivos desde un extracto metanólico de la corteza de esta especie para estudiar su actividad antiplaquetaria. El isomaltol y pentagalloyl glucosa demostraron una potente actividad antitrombótica en un ensayo de agregación plaquetaria inducida por ADP y colágeno, en sangre total de humanos sanos; el IC<sub>50</sub> fue de  $1,77 \times 10^{-1}$  mM y  $5,4 \times 10^{-1}$  mM, respectivamente. También se realizó un estudio *in vivo*, en un modelo de ratón, al que se le inyectó colágeno (1200 µg/kg) y epinefrina (120 µg/kg). Al no

administrar el extracto, solo el 20% se recuperó, pero al proporcionar dosis diarias de 100 mg/kg aumentó la tasa de recuperación a 63,6%. Ensayos posteriores revelaron que existía una supresión en la expresión de un receptor de la membrana plaquetaria y en la movilización de calcio intracelular (101).

Un trabajo más reciente estudió nuevamente la corteza de *T. vernicifluum*, pero esta vez el extracto se obtuvo empleando agua como solvente. *In vitro* se estudió la agregación plaquetaria utilizando PRP y plaquetas lavadas de rata que fueron tratadas previamente con el extracto en cuestión; como agonistas se usaron colágeno (2,5 µg/mL), trombina (0,12 – 0,14 U/mL) y ADP (16µM). En este caso el extracto solo inhibió la agregación inducida por colágeno. Por otro lado, también se aislaron 3 compuestos con actividad antitrombótica: fisetina, buteína y sulfuretina, que inhibieron la agregación plaquetaria estimulada por los mismos agonistas; a concentraciones de 10-100 µM frente al colágeno, y de 100-135 µM frente a trombina y ADP. El extracto no tuvo efectos sobre la coagulación. Se utilizó un modelo de rata para determinar los efectos *in vivo* de la fisetina. Esta fue administrada vía oral por 7 días, para luego inducir la trombosis administrando FeCl<sub>3</sub> en la arteria femoral; a partir de dosis de 100 mg/kg/día de fisetina se prolongó significativamente el tiempo necesario para que se generara la oclusión arterial, pasando de 15,8 ± 2,4 a 44,7 ± 11,3 minutos, evidenciándose así la capacidad de este componente de prevenir la formación de trombos causados por una lesión vascular. Las vías de señalización de quinasas reguladas por señales extracelulares (ERK) y p38 participan en la agregación plaquetaria y por medio de este estudio se determinó, que la fisetina, llevaría a cabo su acción inhibiendo la ERK<sub>2</sub> (102).

### **3.12. Extracto de *Mauritia flexuosa***

*Mauritia flexuosa* o burití es una especie distribuida en distintas regiones amazónicas de Sudamérica, donde representa una fuente de ingresos para las comunidades que lo cosechan (103, 104). En la medicina tradicional el líquido blanco que se desprende de la estípite, se usa para tratar la diabetes; las raíces, para tratar el reumatismo y los dolores de

espalda; el aceite de las frutas, para curar problemas respiratorios, fiebre, mordedura de serpiente y problemas cardiacos donde se señala su capacidad de destapar arterias; las semillas, por último, ayudan a las mujeres durante el parto (105).

La composición fitoquímica de sus frutos está dada por: carotenoides, como  $\beta$ -caroteno,  $\alpha$ -caroteno, luteína, entre otros; vitamina C; tocoferoles; compuestos fenólicos, como los ácidos quínico, caféico, clorogénico, ferúlico, protocatequico y *p*-cumárico; flavonoides, como la catequina, epicatequina, luteolina, apigenina, miricetina, kaempferol, quercetina, tricina-7-O-rutinósido, isoschaftosido, nicotiflorina, rutina, orientina e isoorientina; además contiene distintos tipos de ácidos grasos y fitosteroles (103, 106, 107).

Las propiedades antitrombóticas de *M. flexuosa* han sido estudiadas a partir de la extracción por Soxhlet de aceite vegetal desde la cascara de los frutos, utilizando hexano como solvente. Este extracto inhibió significativamente la expresión de *p*-selectina inducida por trombina en plaquetas humanas lavadas pretratadas con el extracto a concentraciones de 0,1 y 1 mg/mL. El extracto tuvo un efecto inhibitorio sobre la secreción plaquetaria de ATP, inducida por ADP 8  $\mu$ mol/L, colágeno (1,5  $\mu$ g/mL) o TRAP-6 (Activador del receptor de trombina para el péptido 6) (30  $\mu$ mol/L); con IC<sub>50</sub> de 0,59, 0,69, 0,93 mg/mL, respectivamente. La agregación plaquetaria inducida por estos mismos agonistas se vio inhibida por el pretratamiento de las plaquetas con el extracto, con un IC<sub>50</sub> de 0,65, 0,93 y 0,99 mg/mL, respectivamente. El extracto atenuó las interacciones plaqueta-colágeno a concentraciones de 1 mg/mL, generando una menor adherencia y una reducción en la rodadura debido a que disminuyó la interacción leucocito-plaqueta. *In vivo*, el extracto presentó actividad antitrombótica en un modelo murino tratado con dosis de 200 mg/kg, cuyas arterias mesentéricas fueron lesionadas con un láser para inducir la trombosis. El tratamiento con el extracto prolongó drásticamente el tiempo para generar la trombosis arterial, e inhibió el crecimiento del trombo. Finalmente se inhibió la adenilato ciclasa para determinar si los efectos del extracto se daban por la estimulación de esta, lo cual fue

descartado ya que, a pesar de su inhibición, no se revirtieron los efectos del extracto sobre la agregación plaquetaria. Con toda esta evidencia el aceite de *M. flexuosa* podría convertirse potencialmente en el principio activo de un inhibidor de la función plaquetaria con un potencial efecto preventivo sobre la formación de trombos (108).

### **3.13. Extracto de *Psidium guajava* y *Psidium friedrichsthalianum***

Las guayabas, como se conoce popularmente al género *Psidium*, pertenecen a la familia Myracea. La especie *guajava* es nativa de México, aunque actualmente se distribuye en América del Sur, Europa, África y Asia; mientras tanto, la especie *friedrichsthalianum* proviene de Costa Rica. Dentro de la medicina tradicional, estas frutas se han usado como antiinflamatorio; para tratar la diabetes, hipertensión, caries, heridas y enfermedades gastrointestinales; para alivio del dolor y reducción de la fiebre (109-111).

La composición fitoquímica de la piel y pulpa de la especie *P. friedrichsthalianum* está dada por ácido gálico y derivados de este; ácido cinámico, cefeoilquínico, elágico y elagitaninos; flavonones, como la narigenina; flavonoles como la quercetina y derivados de esta; flavanoles monoméricos, como la galactocatequina, epigalactocatequina, catequina, epicatequina; proantocianidinas; flavanolignanos; acetofenonas; biflavonoides y terpenoides (109). *P. guajava* presenta compuestos fenólicos como los ácidos gálico, protocatecuico, ferúlico, clorogénico, elágico y la guavina B; flavonoides como la quercetina, leucocianidina, kaempferol, guaijiverina, avicularina, mecocianona y quercitrina; carotenoides, como  $\beta$  caroteno, luteína y criptoflavina; algunos triterpenos y citoquininas (110).

Se ha descrito potencial antitrombótico en extractos acuosos de hojas y frutos de las especies *P. friedrichsthalianum* y *P. guajava*. Ambas especies han sido estudiadas realizando ensayos de agregación plaquetaria en PRP humano tratado con el extracto a concentraciones de 1, 0,5 y 0,25 mg/mL, usando como agonistas ADP (4  $\mu$ M), TRAP-6 (10  $\mu$ M), PMA (miristato de forbol acetato) (100 nM) y colágeno (1  $\mu$ g/mL). El extracto obtenido de las

hojas de *P. guajava* a una concentración del extracto igual a 1 mg/mL, inhibe la agregación plaquetaria en un 86% y 78% al utilizar los agonistas ADP y TRAP-6, respectivamente. Por otro lado, las frutas de esta especie a una concentración de 1 mg/mL, presentaron el mayor porcentaje de inhibición al utilizar colágeno y TRAP-6, siendo este de 98% y 95%, respectivamente. La especie *P. friedrichsthalium*, inhibió la agregación plaquetaria inducida por TRAP-6 y PMA en un 55% y 31,7% respectivamente a una concentración de 0,25 mg/mL del extracto de hojas. Los extractos de frutas igual exhibieron potencial antitrombótico tanto frente a colágeno como frente a TRAP-6, siendo este de 95% a concentraciones de 0,5 y 1 mg/mL. Para dilucidar parte del mecanismo por el cual el extracto generaba este efecto, se midieron la expresión de *p*-selectina y activación de la glicoproteína (GP) IIb/IIIa marcadores de la activación plaquetaria. Todos los extractos inhibieron a la concentración de 1 mg/mL la expresión de *p*-selectina inducida por ADP, mientras que al utilizar TRAP-6 como inductor, solo *P. guajava* la inhibió. En cuanto a la expresión de GP IIb/IIIa, ambas especies redujeron su activación frente a los agonistas ADP y TRAP-6 (112).

### **3.14 Extracto de *Mangifera indica* L.**

El mango, como se conoce popularmente a la especie *Mangifera Indica* L., tuvo su origen en India, desde donde fue llevado por los portugueses a Brasil, para luego dispersarse por América del sur (113). En varias partes alrededor del mundo el mango es parte importante de la dieta, consumido debido a su succulencia o sabor dulce y exótico (114). Los usos medicinales del mango son variados, incluyen tratamiento de diarrea, anemia, hipotensión, reumatismo, diabetes y problemas hepáticos (115).

El mango contiene diversos macronutrientes y micronutrientes, aporta pocas calorías y fibra a la dieta. Dentro de los componentes bioactivos de sus frutos se encuentran ácidos ascórbico y deshidroascórbico; carotenoides, como  $\beta$  caroteno; polifenoles, como la mangiferina, isomangiferina, homomangiferina, quercetina, kaempferol y antocianinas; ácidos fenólicos, como los ácidos gálico, protocatecuico, ferúlico, caféico, cumárico, alagico

y 4-cafeoilquínicos; terpenoides y minerales con capacidades antioxidantes como el potasio, cobre, zinc, manganeso, hierro y selenio (114).

La actividad antitrombótica del mango se ha probado utilizando extractos obtenidos desde liofilizados de distintas partes de la fruta (pulpa, piel, cáscara de semilla y de cáscara), con una solución de metanol y agua como solventes. Se realizó un ensayo de agregación plaquetaria en el cual se empleó como ADP (4  $\mu$ M) como agonista y PRP humano incubado con los extractos obtenidos de las distintas partes del mango a una concentración de 1 mg/mL. Las semillas del mango inhibieron de forma dosis dependiente la agregación plaquetaria en un 72% la agregación plaquetaria, siendo las únicas que lo hicieron significativamente (116).

Otro trabajo ha señalado que la cascara de mango también posee efectos antiplaquetarios, y que estos dependen de la etapa madurativa en la que se encuentre el mango. Esto se evidenció en un ensayo de agregación plaquetaria realizado en plaquetas de rata, en donde el extracto acuoso de cascara de mango madurado, a una concentración de 0,8 mg/mL, inhibió la agregación plaquetaria en un 25%. Este mismo ensayo se realizó también con plaquetas humanas pero la inhibición fue menor siendo esta de un 10% (117).

### **3.15. Extracto de *Annona cherimola* Mill.**

La *Annona cherimola* Mill. o chirimoya, es originaria de Sudamérica y se encuentra distribuida en regiones tropicales o subtropicales de América, África y Asia, y el sur de Europa (118). Además de aportar nutrientes en la dieta, las especies de *Annona* se utilizan para tratar enfermedades de la piel, las parásitos intestinales, la inflamación de los ojos, prevención de disentería y alivio de diarrea (119, 120).

Se compone por carbohidratos, proteínas, lípidos, alcaloides, flavonoides, glucósidos, saponinas, taninos, fitoesteroles y aminoácidos. Se considera que la planta contiene varios compuestos químicos bioactivos. Desde los tallos y semillas de *A. cherimola* Mill., se ha

aislado annocherina A, cherianoine, annocherine B, aromin A, N-cis-cafeoiltramina, dihidro-feruloiltiramina y cherimolina. Las semillas contienen ciclooctapéptidos y cherimolaciclopéptidos A y cherimolaciclopéptidos B. Otros compuestos bioactivos que se han identificado son la quercetina, rutina, epicatequina, catequina, las procianidinas y los ácidos quínico, cafeico, *p*-cumárico, ferúlico, malico y sinápico, entre otros (119, 120).

Se han estudiado las propiedades antitrombóticas y antioxidantes de la chirimoya, analizando los efectos que la fermentación, por distintas especies de bacterias lácticas tendrían sobre estas propiedades. Los extractos empleados eran de tipo acuoso, obtenidos del jugo sin pulpa de la chirimoya, ya sea no fermentado o fermentado por distintas bacterias. Para estudiar las propiedades antitrombóticas se realizó un ensayo de agregación plaquetaria en el que se usó ADP (4 $\mu$ M) como agonista y PRP humano incubado con los extractos a una concentración de 1 mg/mL. El porcentaje de inhibición de la agregación plaquetaria para el extracto fermentado estuvo entre 31% y 66% mientras que para los extractos fermentados fue de un 70%. Los extractos fermentados presentaban menor concentración de glucosa, pero también tenían menor contenido fenólico; a pesar de esto, no se hubo grandes diferencias en la capacidad antioxidante del extracto fermentado y el no fermentado (121).

### **3.16. Extracto de *Chenopodium quinoa* Will.**

*Chenopodium quinoa* Will., es una planta andina cuyo origen se dio en regiones cercanas al río Titicaca en Perú y Bolivia. En la actualidad se encuentra distribuida en América, Europa, Asia y África (122). La quinoa ha formado parte importante en la dieta en los Andes sudamericanos. Es un alimento con alto valor biológico y muy nutritivo que se ha asociado con la reducción del riesgo de enfermedades crónicas, gracias a sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, inmunomoduladoras, anticancerígenas y otras (123).

La quinoa posee un alto contenido de proteínas, almidón y fibra dietética. Posee cantidades importantes de componentes bioactivos como fitoesteroles, betaínas, escualeno,

ecdisteroides, fagopiritoles, carotenoides, triterpenoides, vitamina C y polifenoles. Dentro de este último grupo se pueden encontrar, tanto en las hojas como en las semillas, ácidos fenólicos como el cafeico, ferúlico, cumárico, benzoico, vanílico, galico, cinámico, entre otros; también posee flavonoides como la miricetina, quercetina, kaempferol, isorhamentina, rutina, orientina, vitexina, morina, hesperidina y neopeiridina (123-125).

El potencial antitrombótico de la quinoa no ha sido descrito en profundidad, pero un estudio, en el que se utilizó un extracto etanólico liofilizado de quinoa, señaló que este extracto era capaz de inhibir en un 10% la agregación plaquetaria inducida por ADP (4  $\mu$ M). Este ensayo se realizó incubando previamente PRP humano con el extracto en cuestión a una concentración de 1 mg/mL. Considerando esto, se necesitan más evidencias para dilucidar completamente el potencial antitrombótico de la quinoa y su mecanismo de acción (126).

### **3.17. Extracto de *Lupinus spp.***

El altramuz o *Lupinus spp.* es un cultivo antiguo. Se señala su uso como alimento en Grecia y desde donde se distribuyó al resto del mundo. Es capaz de adaptarse a distintas condiciones ecológicas creciendo en climas tropicales, mediterráneos o de bajas temperaturas (127). Esta especie ha sido utilizada, en la medicina tradicional, para tratar la diabetes, los abscesos, afecciones cardíacas, epilepsia, reumatismo y la presencia de parásitos (128).

La semilla de *Lupinus spp.* Tienen cantidades importantes de compuestos fitoquímicos, tales como polifenoles, fitoesteroles y esculeno. Dentro de los polifenoles se han identificado flavonas del grupo de agliconas y/o glucósidos de luteolina, apigenina y diosmetina. Es importante mencionar que estos polifenoles pueden encontrarse en diversas zonas de la planta en diferentes concentraciones (129).

Las especies *Lupinus albus*, *Lupinus angustifolius* y *Lupinus mutabilis*, han mostrado actividad antiplaquetaria. La agregación plaquetaria en PRP humano, inducida por ADP (4

$\mu\text{M}$ ), se vio inhibida en un 53% a una concentración del extracto de 1 mg/mL. La expresión de *p*-selectina fue estudiada por citometría de flujo; en este caso, las plaquetas lavadas fueron incubadas previamente con el extracto y se utilizó ADP (4  $\mu\text{M}$ ) como inductor de la agregación. De esta manera, estas tres especies tuvieron la capacidad de reducir la expresión de *p*-selectina respecto al control utilizado, lo que demuestra que en presencia de los extractos, la activación de las plaquetas sería menor (126).

### **3.18. Extracto de *Allium sativum***

*Allium sativum* o ajo es una hortaliza de importancia en todo el mundo, tanto en la gastronomía como en la medicina tradicional. Su origen radica en regiones de Asia central, desde donde se distribuyó hacia el resto del mundo. En la medicina tradicional el ajo ha estado presente desde hace siglos, principalmente para tratar enfermedades cardíacas, pero actualmente se han identificado múltiples beneficios como la acción antibiótica y la reducción del colesterol plasmático total, la presión arterial y la agregación plaquetaria (130).

La composición química de los bulbos de esta especie presenta elementos volátiles, vitaminas (vitamina C principalmente), antioxidantes, flavonoides, fenoles, minerales y proantocianinas (131). Entre sus componentes bioactivos, el ajo también presenta compuestos que dentro de su estructura presentan azufre, tales como alicina, aliina, sulfuro de dialilo, disulfuro de dialilo, trisulfuro de dialilo, ajoenos y S-alil-cisteína (132).

Existe variada evidencia de que el consumo de ajo está inversamente relacionado con la progresión de enfermedades cardiovasculares (133). Se han estudiado los efectos de los ajoenos sobre la agregación plaquetaria inducida por ADP (20 o 40  $\mu$ ) y colágeno (12,5  $\mu\text{g/ml}$ ) en PRP de babuino, encontrándose una inhibición completa a concentraciones de 75  $\mu\text{g/ml}$  y 25  $\mu\text{l/ml}$  de ajoeno, respectivamente. *In vivo*, dosis de 25 mg/kg de ajoeno, administradas a babuinos, inhibieron completamente la agregación plaquetaria por un periodo limitado de 2 horas (134). Por otro lado, se ha reportado un efecto antiagregante

modulado por la inhibición de COX debido al 2-propenil tiosulfato de sodio, en PRP de perros Beagle a una concentración 0,1 mM (135). Extractos de ajo de cloroformo y acetona mostraron efectos inhibitorios de la agregación plaquetaria en PRP humano, al utilizar como agonistas ADP ( $10^{-4}$  M) y PAF ( $10^{-6}$  M), obteniéndose un  $IC_{50}$  de 0,88  $\mu$ g/ml y 0,42 g/ml respectivamente (133, 136). Un estudio identificó el mecanismo por el cual otro compuesto, el trisulfuro de dialilo, inhibía la función plaquetaria, determinando que esta acción ocurría por inhibición de la movilización de  $Ca^{2+}$  en la agregación plaquetaria y  $^{+}$  (137).

Trabajos recientes han estudiado extractos de ajo envejecido, obtenidos al dejar ajo inmerso en etanol durante meses a temperatura ambiente, para luego ser filtrado y caracterizado. Este extracto, en concentraciones de hasta 6,25% (v/v), se añadió a PRP humano, para realizar ensayos de agregación plaquetaria utilizando ADP (8  $\mu$ M) como agonista. Al añadir óxido nítrico junto al extracto, se encontró sinergismo entre ambos, presentando un porcentaje de inhibición de hasta el 67%. Por microscopía electrónica se observó la diferencia entre plaquetas activadas con ADP, tratadas o no con el extracto (5% v/v), revelando que las no tratadas generaban pseudópodos que unían a las plaquetas entre ellas, mientras que las tratadas no generaban gran número de pseudópodos, cambiaban poco su forma y se adherían menos al FIB. Esto ocurre debido a que el extracto inhibe el receptor GP IIb/IIIa y la reorganización de la actina (138).

Estudios *in vivo* en ratas, demostraron que dosis de 1, 2 o 5 g/kg de extracto de ajo envejecido disminuyen significativamente la agregación plaquetaria inducida por colágeno (10, 20, 30 o 40  $\mu$ g/ml), medida en PRP. El extracto aumentó los niveles de ATP extracelular y TxB<sub>2</sub> extracelular e intracelular, y suprimió la fosforilación de ERK, p38 y quinasas c-Jun N-terminal frente a colágeno; se sugiere que el extracto inhibe receptores P2X<sub>1</sub>, tromboxano y la vía de señalización de MAPK. Por otro lado, en las ratas tratadas no existió prolongación significativa en el tiempo de sangrado, u otros efectos anti hemostáticos (139).

### 3.19. Extracto de *Beta vulgaris L.*

La remolacha roja (*Beta vulgaris L.*), es una especie distribuida en Asia Menor, regiones mediterráneas y Europa. Hay registros de su uso desde el año 1000 a. C., en poblaciones que habitaban la cuenca mediterránea. Su cultivo y consumo en la mesa es habitual, donde se la conoce por su alto valor nutricional y beneficios asociados a la protección de riñones, hígado e intestino cuando se presentan compuestos tóxicos, junto con la estimulación de hematopoyesis y sistema inmunológico (140, 141).

Dentro de la composición química de *B. vulgaris* destaca la presencia de polifenoles tales como ácidos fenólicos, flavonoides y amidas fenólicas. Los ácidos fenólicos que se pueden encontrar en mayor concentración son ácidos siríngico y ácido cafeico. Respecto a los flavonoides algunos de los que se han identificado son hidrato de catequina, epicatequina y amidas fenólicas; tales como betacianinas y betaxantinas. Las semillas, por su parte, se caracterizan por poseer aceites esenciales (140).

Se ha estudiado la actividad antitrombótica de un extracto de remolacha roja diluido con dextrina, distribuido comercialmente como “betanina”. Utilizando PRP humano incubado con betanina a concentraciones de 2, 20, 200  $\mu\text{M}$ , se midió la agregación plaquetaria inducida por trombina (0,5 U/ml), la cual se vio inhibida de forma dependiente de la dosis. Por otro lado, se encontró que al pretratar estas plaquetas con concentraciones de 20 y 200  $\mu\text{M}$  de betanina, se atenuaba significativamente la liberación de ATP plaquetario inducido por trombina. *In vivo*, en un modelo de ratón, no se observó presencia de efectos adversos como un tiempo de hemorragia prolongado o coagulación sanguínea alterada. Además, se descartó la citotoxicidad al evaluarse la fuga citosólica de LDH. Se estipula que el mecanismo de acción por el cual el extracto atenúa la activación plaquetaria, la secreción de gránulos y la agregación plaquetaria, está dado por la regulación de la vía MAPK PI3K/Akt-p38 y la inhibición de la expresión de *p*-selectina (142).

**Tabla 2: Extractos naturales con actividad antiplaquetaria**

**Fuente:** Elaboración propia Urrutia, M. (2021)

Especie en estudio	Origen y/o Distribución	Usos en la medicina tradicional	Principales componentes bioactivos	Métodos de extracción	Ensayo realizado	Agonistas utilizados	Resultados principales	Mecanismo de acción propuesto
<i>Salvia miltiorrhiza Bunge</i>	China y Japón	En estasis sanguínea, para aliviar la ansiedad y en enfriamiento de la sangre	Diterpenoides y ácidos fenólicos hidrofílicos	Extracto de CO <sub>2</sub> supercrítico	<i>In vitro</i>	Análogo estable de TxA <sub>2</sub> (3 μM) y ADP (10 μM)	A 440 mg/L, 44 mg/L, 4,4 mg/L y 0,44 mg/L inhibe agregación plaquetaria inducida por ADP y un análogo estable de TxA <sub>2</sub>	Inhibe activación de la vía de señalización de PLC/PKC
					<i>In vivo</i>	ADP (10 μM), U46619 (3 μM)	Dosis de 15 mg/kg, 7,5 mg/kg y 3,75 mg/kg disminuyen daños por lesión isquémica e inhiben agregación plaquetaria estimulada por ADP y U46619	
<i>Humulus lupulus</i>	China/Mundial, en regiones templadas	Activar función gástrica y tratamiento de trastornos del sueño y como sedante suave	Flavonoides, como flavanoles, proantocianidinas, flavonoles, flavanonas y prenilflavonoides (xanthohumol)	Extracto CO <sub>2</sub> supercrítico	<i>In vitro</i>	ADP (6,4 μmol/L), AA (0,5 μmol/L), colágeno (3,2 μg/ml)	A 7,5 y 15 μg/ml inhibe significativamente la agregación plaquetaria inducida por ADP	Actúa sobre ROS y mejora actividad anticoagulante de células endoteliales. Inhibe interacción de plaqueta con ADP

Especie en estudio	Origen y/o Distribución	Usos en la medicina tradicional	Principales componentes bioactivos	Métodos de extracción	Ensayo realizado	Agonistas utilizados	Resultados principales	Mecanismo de acción propuesto
<i>Juglans regia</i> L.	Asia Central /Mundial	Tratar diabetes, dolores reumáticos, fiebre, enfermedades de la piel, malaria.	Fenoles como flavonoles	Extracto de acetona de cáscara verde seca de nuez	<i>In vitro</i>	Trombina (0,25 U/ml)	Dosis de 50 µg/ml inhiben la agregación plaquetaria inducida por trombina	Suprime generación de ROS y activaba caspasas que las neutralizan. Al modular el estado redox intracelular, regula la actividad plaquetaria
<i>Rubia tinctorum</i> L.	Europa, Oriente Medio e India/regiones mediterráneas	Tratar hipertensión arterial, dolor de hígado, anemia y diarrea	Antraquinonas, polifenoles	Extracto butanólico de raíz	<i>In vitro</i>	Colágeno (2 µg/ml)	A 250 µg/ml, 500 µg/ml y 1000 µg/ml inhibe agregación plaquetaria inducida por colágeno	Inhibe la agregación plaquetaria inducida por colágeno
					<i>Ex vivo</i>	---	Dosis de 100 mg/kg prolongan tiempo de sangrado de cola, sin cambiar recuento de plaquetas	
<i>Allium cepa</i> L.	Mundial	Utilizada para combatir enfermedades infecciosas	Flavonoides (quercetina)	Extracto etanólico liofilizado a partir de la capa externa de cebolla	<i>In vitro</i>	Colágeno (5 µg/ml)	Inhibe agregación plaquetaria con IC <sub>50</sub> de 80,0 mg/ml	Inhibe moléculas inductoras de agregación, movilización de Ca <sup>2+</sup> intracelular y TxA <sub>2</sub> al bloquear la COX-1 y TxAS
<i>Crataegus pinnatifida</i>	Mundial	Mejorar digestión, retención de alimentos,	Monoterpenos y flavonoides	Extracto etanólico a	<i>In vitro</i>	ADP (10 µmol/L)	Inhibe agregación plaquetaria desde 400 µg/mL	Bloquean la acción plaquetaria inhibiendo

Especie en estudio	Origen y/o Distribución	Usos en la medicina tradicional	Principales componentes bioactivos	Métodos de extracción	Ensayo realizado	Agonistas utilizados	Resultados principales	Mecanismo de acción propuesto
		promover la circulación sanguínea		partir de hojas secas	<i>In vivo</i>	---	Fracciones aisladas desde este extracto inhiben formación de trombos	selectivamente la unión al ADP
<i>Crataegus monogyna</i> y <i>Crataegus davisii</i>	América del Norte, Asia Oriental, Asia Central y Europa	Mejora circulación, elimina estasis sanguínea. Problemas gastrointestinales cardiacos y respiratorios	Flavonoides, ácidos orgánicos o fenólicos, azúcares, terpenos, y aceites esenciales.	Extracto de etanol	<i>In vivo</i>	---	Dosis de 50 mg/kg para <i>C. davisii</i> y de 100 mg/kg para <i>C. monogyna</i> disminuyen significativamente la longitud de la trombosis en la cola de ratones	Se desconoce el mecanismo de acción subyacente
<i>Piper wallichii</i>	Asia	Tratar artritis reumatoide, enfermedades inflamatorias, infarto cerebral y angina de pecho	Glicósidos aromáticos, lignanos, bifenilos, fenilpropil aldehídos	Extracto metanólico de los tallos, purificado por cromatografía	<i>In vitro</i>	PAF (40 ng/mL)	A 0,50 mM un compuesto aislado exhibió la mayor agregación plaquetaria	Los lignanos tienen actividad antagonista del receptor del PAF
					<i>In vivo</i>	AA	A 30 µM inhibe formación de trombos inducidos por AA	
<i>Eisenia bicyclis</i>	Corea, China y Japón	Importante fuente alimentaria	Compuestos fenólicos florotaninas, polisacáridos	Extracto metanólico, sometido a	<i>In vitro</i>	ADP (10 µM), colágeno (2,5 µg/ml), y	A 6,25 µg/ml inhibe la agregación plaquetaria inducida por ADP, colágeno y trombina	Se propuso que a través de la modulación de la vía P2Y12 el extracto

Especie en estudio	Origen y/o Distribución	Usos en la medicina tradicional	Principales componentes bioactivos	Métodos de extracción	Ensayo realizado	Agonistas utilizados	Resultados principales	Mecanismo de acción propuesto
				cromatografía		trombina (0,1 U/ml)		inhibiría la formación de trombos
					<i>In vivo</i>	---	Dosis de 100 mg/kg y 200 mg/kg inhiben la formación de trombos	
<i>Lindera obtusiloba</i>	China y Corea	Tratamiento de estasis sanguínea e inflamación	Lactonas, lignanos, fitoesteroles, butanolides, glucósidos flavonoides	Extracto etanólico	<i>In vitro</i>	ADP (20 $\mu$ M) Colágeno (20 $\mu$ g/ml)	Inhibe agregación plaquetaria inducida por ADP con IC <sub>50</sub> 0,4 $\pm$ 0,1 mg/ml	Se desconoce mecanismo de acción subyacente
						AA (100 $\mu$ M), ADP (10 $\mu$ M), Colágeno (2 $\mu$ g / ml), y trombina (0,2 U/ml)	Inhibe agregación plaquetaria inducida por AA, ADP, colágeno, y trombina con IC <sub>50</sub> 0,48, 0,48, 0,44 y 0,49 mg/ml	
					<i>In vivo</i>	---	Dosis de 400 mg/kg inhiben tromboembolia pulmonar	
					<i>Ex vivo</i>	AA (100 $\mu$ M), ADP (10 $\mu$ M), Colágeno (2 $\mu$ g / ml)	Dosis de 200 y 400 mg/kg inhibieron agregación plaquetaria	

Especie en estudio	Origen y/o Distribución	Usos en la medicina tradicional	Principales componentes bioactivos	Métodos de extracción	Ensayo realizado	Agonistas utilizados	Resultados principales	Mecanismo de acción propuesto
<i>Toxicodendron vernicifluum</i>	Asia	Hemorragia traumáticas, ulceración, hidrocefalia e hinchazón	Flavonoides, glucósidos, feniletanoides, cumarinas, ácidos grasos, esteroides y polisacáridos	Compuestos aislados desde extracto acuoso de la corteza	<i>In vitro</i>	ADP (16µM), colágeno (2,5 µg/mL), trombina (0,12-0,14 U/mL)	A 10-100 µM inhiben agregación plaquetaria inducida por colágeno, y a 100-135µM inhiben agregación plaquetaria inducida por trombina y ADP.	Inhibe ERK <sub>2</sub> y suprime expresión de receptor de membrana plaquetaria y la movilización de Ca <sup>+2</sup> intracelular
					<i>In vivo</i>	---	Dosis de 100 mg/kg/día de fisetina (compuesto aislado) prolonga tiempo para la oclusión arterial por trombosis	
				Extracto metanólico de la corteza	<i>In vitro</i>	ADP y colágeno	Inhibe agregación plaquetaria inducida por ADP y colágeno con IC <sub>50</sub> fue de 1,77 x 10 <sup>-1</sup> mM y 5,4 x 10 <sup>-1</sup> mM	
<i>Mauritia flexuosa</i>	Sudamérica	Diabetes, reumatismo, enfermedades respiratorias, fiebre, problemas cardíacos	Carotenoides, tocoferoles, polifenoles, fitosteroles	Extracto de hexano	<i>In vitro</i>	ADP 8 µmol/L, colágeno 1,5 µg/mL o TRAP-6 (30 µmol/L)	Inhibe agregación plaquetaria con IC <sub>50</sub> de 0,65, 0,93 y 0,99 mg/mL para ADP, colágeno y TRAP-6	Atenúa interacción colágeno-plaqueta, inhibe agregación mediada por ADP, colágeno y trombina
					<i>In vivo</i>	---	Prolonga tiempo de formación de trombosis	

Especie en estudio	Origen y/o Distribución	Usos en la medicina tradicional	Principales componentes bioactivos	Métodos de extracción	Ensayo realizado	Agonistas utilizados	Resultados principales	Mecanismo de acción propuesto
<i>Psidium spp.</i>	México/mundial	Diabetes, hipertensión, caries, heridas y enfermedad gastrointestinal, dolor y fiebre	Flavonones, flavonoles, flavanoles, proantocianidinas, flavanolignanos, acetofenonas, biflavonoides carotenoides y terpenoides	Extracto acuoso	<i>In vitro</i>	ADP (4 $\mu$ M), TRAP-6 (10 $\mu$ M), PMA (100 nM), colágeno (1 $\mu$ g/mL).	<i>P. guajava</i> a 1 mg/mL inhibe agregación por ADP en un 86%, por TRAP-6 en un 78% y 95% y colágeno en un 98% <i>P. friedrichsthali</i> a 0,25 mg/mL inhibe agregación por TRAP-6 (55% y 95%) y PMA (31,7%)	Disminuye expresión de <i>p</i> -selectina y activación de GP IIb/IIIa
<i>Mangifera indica</i> L	India/sudamérica y Asia	Diarrea, anemia, hipotensión, reumatismo, diabetes y problemas hepáticos	Carotenoides, polifenoles, ácidos fenólicos y terpenoides	Extractos metanólicos liofilizados	<i>In vitro</i>	ADP (4 $\mu$ M)	A 1 mg/mL inhibe agregación plaquetaria, inducida por ADP, en un 72%	Inhibe agregación mediada por ADP
<i>Annona cherimola</i> Mill.	Sudamérica/Mundial	Enfermedades de la piel, parásitos intestinales, inflamación de ojos, prevenir disentería y diarrea	Alcaloides, flavonoides, glucósidos, saponinas, taninos y fitoesteroles	Extracto acuoso	<i>In vitro</i>	ADP (4 $\mu$ M)	A 1 mg/mL inhibe agregación plaquetaria, inducida por ADP, en un 70%	Inhibe agregación mediada por ADP

Especie en estudio	Origen y/o Distribución	Usos en la medicina tradicional	Principales componentes bioactivos	Métodos de extracción	Ensayo realizado	Agonistas utilizados	Resultados principales	Mecanismo de acción propuesto
<i>Chenopodium quinoa</i> Will.	Perú y Bolivia/ Mundial	Alimentación y nutrición	Fitoesteroles, betaínas, escualeno, ecdisteroides, fagopiritoles, carotenoides, triterpenoide, vitamina C y polifenoles	Extracto etanólico	<i>In vitro</i>	ADP (4 µM)	A 1 mg/mL inhibe agregación plaquetaria, inducida por ADP, en un 10%	Inhibe agregación mediada por ADP
<i>Lupinus spp.</i>	Grecia/Mundial	Diabetes, abscesos, afecciones cardiacas, epilepsia, reumatismo y parasitosis	Polifenoles, fitoesteroles y esculeno	Extracto etanólico	<i>In vitro</i>	ADP (4 µM)	A 1 mg/mL inhibe agregación, inducida por ADP, en un 53%	Inhibe agregación mediada por ADP, disminuye expresión de <i>p</i> -selectina.
<i>Allium sativum</i>	Asia central	Enfermedades cardiacas	Flavonoides, fenoles, proantocianinas y compuestos con azufre	Extracto de ajo envejecido extraído con etanol	<i>In vitro</i>	ADP (8 µM)	A 6,25% (v/v) hay sinergismo con óxido nítrico, 5% (v/v) disminuye número de pseudópodos, cambiaba menos la forma y se adherían menos al FIB	Efecto antitrombótico mediado por modulación de equilibrio PGI/Tx Inhibe receptor GP IIb/IIIa y reorganización de actina por supresión de

Especie en estudio	Origen y/o Distribución	Usos en la medicina tradicional	Principales componentes bioactivos	Métodos de extracción	Ensayo realizado	Agonistas utilizados	Resultados principales	Mecanismo de acción propuesto
					<i>In vivo</i>	Colágeno (10, 20, 30 o 40 µg/ml)	Dosis de 1, 2 o 5 g/kg disminuyen significativamente la agregación plaquetaria inducida por colágeno	fosforilación de ERK, p38 y quinasas c-Jun N-terminal. Inhibe receptores P2X <sub>1</sub> y de la vía de señalización de MAPK
<i>Beta vulgaris</i> L	Asia Menor, Europa y regiones mediterráneas	Considerada de gran aporte nutricional	Ácidos fenólicos, flavonoides, betalaínas, amidas fenólicas, autocianinas	Extracto de remolacha roja diluido con dextrina	<i>In vitro</i>	Trombina (0,5 U/ml)	A 2, 20, 200 µM inhibe agregación plaquetaria inducida por trombina. 20 y 200 µM de betanina, atenúa la liberación de ATP plaquetario. 200 µM se inhibe expresión de <i>p</i> -selectina	Modula MAPK PI3K / Akt-p38 atenuando activación plaquetaria, inhibe expresión de <i>p</i> -selectina
					<i>In vivo</i>	---	No hay tiempo de hemorragia prolongado ni una coagulación sanguínea alterada	

**AA:** Ácido araquidónico, **ADP:** Adenosín difosfato, **COX:** Ciclooxigenasa, **FIB:** Fibrinógeno, **IC<sub>50</sub>:** Concentración inhibitoria media máxima, **GP:** Glicoproteína, **PAF:** Factor activador de plaquetas, **PMA:** Miristato de forbol acetato, **ROS:** Especies reactivas de oxígeno, **TRAP-6:** Activador del receptor de trombina para el péptido 6, **Tx:** Tromboxano, **TxA<sub>2</sub>:** Tromboxano A2, **TxAS:** Tromboxano sintetasa, **PLC/PKC:** Fosfolipasa C/Proteína quinasa

## 4. Extractos naturales con actividad fibrinolítica

### 4.1. Extracto de *Chlorella vulgaris*

Las microalgas datan de millones de años atrás y se estima que estas podrían ser ancestros de las plantas. Se cree que desde la antigüedad los aztecas y otros mesoamericanos utilizaron las microalgas como una fuente de alimento de gran importancia. Actualmente su uso se da con diferentes fines tales como, la obtención de tintes, productos farmacéuticos, alimentación animal, acuicultura y cosméticos (143).

La composición de esta microalga está estrechamente relacionada con las condiciones de su cultivo. Principalmente contiene proteínas, lípidos, carbohidratos y pigmentos con propiedades antioxidantes. Esta especie también presenta minerales, como lo son potasio, magnesio y zinc, junto con vitaminas (A, C, E, y complejo B) (143).

Se ha estudiado la actividad fibrinolítica de cultivos de *C. vulgaris* con distintos medios mixotróficos. Desde los cultivos se obtuvo biomasa liofilizada y homogeneizada para posteriormente ser centrifugada y obtener un sobrenadante que correspondía al extracto crudo. Este último fue eluído por cromatografía de intercambio aniónico para obtener una fracción enzimática. Posteriormente se realizó un ensayo espectrofotométrico de degradación de fibrina, donde una mezcla de fibrinógeno y trombina fue incubada con la enzima. Los resultados muestran que a mayor concentración del cultivo la actividad fibrinolítica aumenta proporcionalmente obteniéndose como actividad proteolítica  $112,46 \pm 5,04$  U/mg. Además, se probó la capacidad inhibitoria de iones e inhibidores metálicos sobre la actividad enzimática de la enzima fibrinolítica, donde todos los iones probados fueron capaces de inhibir la actividad enzimática, excepto el  $\text{Fe}^{+2}$  que resultó ser un inductor. Finalmente, se estudió la capacidad hemolítica de la enzima, obteniéndose como resultado una tasa lisis de eritrocitos no significativa (144).

**Tabla 3: Extractos naturales con actividad fibrinolítica**

**Fuente:** Elaboración propia Urrutia, M. (2021)

Especie en estudio	Origen y/o Distribución	Usos en la medicina tradicional	Principales componentes bioactivos	Métodos de extracción	Ensayo realizado	Resultados principales	Mecanismo de acción propuesto
<i>Chlorella vulgaris</i>	Se encuentra en ríos y arroyos de agua dulce	Utilizada como fuente alimentaria	Vitaminas, minerales Colorantes con contenido antioxidante	Fracción enzimática obtenida desde biomasa, por cromatografía	<i>In vitro</i>	A 112,46 ± 5,04 U/mg presentó actividad fibrinolítica	Posee una enzima con capacidades fibrinolíticas (se desconoce mecanismo subyacente)

## 5. Extractos naturales con actividad anticoagulante y antiplaquetaria

### 5.1. Extracto de *Ginkgo biloba*

*Ginkgo biloba* es un árbol nativo de China que se encuentra distribuido en regiones de Asia, Europa y América. En la medicina tradicional china se ha utilizado la infusión de hojas de *G. biloba* para tratar trastornos circulatorios o cerebrales, y enfermedades respiratorias. En Europa y Estados Unidos se comercializa un extracto de acetona y agua de las hojas de *G. biloba*, el cual posee un contenido estandarizado de flavonoides y terpenoides y se usa como suplemento para el desarrollo cognitivo (145-147). Desde los años 80 el interés médico por investigar esta planta ha aumentado y junto con ello, *G. biloba*, se ha convertido en plantas medicinales más vendidas a nivel mundial (148, 149).

Se han identificado trilactonas terpénicas llamadas ginkgólidos A, B, C y J, glucósidos de flavonol, proantocianidinas y flavonoides como los principales componentes bioactivos de esta planta. Además, posee una serie de metabolitos secundarios que incluyen terpenoides, polifenoles, alil fenoles, ácidos orgánicos, carbohidratos, ácidos grasos, lípidos, sales inorgánicas y aminoácidos (148, 150).

Se han descrito propiedades antitrombóticas en un extracto de hojas de *G. biloba*, que además potenció la actividad de un fármaco antiplaquetario, el cilostazol. *In vitro*, el extracto no tenía efecto sobre TP y TTPa medidos en plaquetas lavadas, pero sí tuvo efecto sobre la agregación plaquetaria inducida por colágeno (2~3 µg/ml), inhibiéndola a una concentración de 40 µg/ml, y actuó sinérgicamente con el cilostazol (4 µM), mostrando efectos antiplaquetarios significativamente mayores en comparación al uso del fármaco por sí solo. Los efectos *in vivo* se estudiaron en modelos de ratón de trombosis aguda y de trombosis arterial, inducidas por colágeno-epinefrina y FeCl<sub>3</sub>, respectivamente donde los grupos tratados con dosis de cilostazol y el extracto, presentaron mayor supervivencia. Esta combinación de el extracto más el fármaco no promueve ni genera hemorragia (149).

Por otro lado, a través de un ensayo bioquímico basado en fluorescencia, se detectaron y caracterizaron los potenciales de inhibición de las biflavonas ginkgetina, isoginkgetina, bilobetina y amentoflavona, presentes en *G. biloba* obteniendo como resultado inhibición mixta de la hidrólisis del acetato de Z-GGRAMC (sustrato de fluorescencia de trombina) por trombina humana, con una IC<sub>50</sub> que va de 8,05 M a 17,83 M. Las biflavonas presentes en esta especie, interaccionan con la trombina humana ocupando su cavidad activa, uniéndose con interacciones de puentes salinos y puentes de hidrógeno (145).

Un estudio reportó potenciales daños renales y hepatotoxicidad en esta especie al demostrarse que cinco de sus biflavonoides (amentoflavona, sciadopitysin, ginkgetin, isoginkgetin y bilobetin) reducían la viabilidad celular en células epiteliales tubulares renales humanas y en hepatocitos humanos normales. *In vivo*, se observó una degeneración hidrópica generalizada de los hepatocitos en ratones tratados con ginkgetin o bilobetin y los cinco biflavonoides indujeron a daño renal agudo. Considerando lo antes mencionado se recomienda profundizar más en los daños secundarios al uso de *G. biloba*, para “un uso racional, seguro y eficaz de las preparaciones de *G. biloba*” (151).

## 5.2. Extracto de *Dioscorea zingiberensis*

Esta especie corresponde a un tubérculo proveniente de Asia, y actualmente distribuido en algunas provincias al suroeste de China principalmente, donde se la conoce como jengibre amarillo. En la medicina tradicional china, destaca su uso en el tratamiento de varios síntomas, como distensión abdominal, frío mortal en manos y pies, pérdida de apetito, disentería anoréxica, micción frecuente, etc. (152).

Dentro del estudio de la composición química del rizoma destacan la presencia de saponinas esteroides. Hasta ahora, se han aislado e identificado 70 compuestos de los rizomas, entre los cuales hay saponinas esteroides de espirostanol, saponinas esteroides de furostanol y esteroides (152).

Por medio de estudios *in vitro* e *in vivo*, se ha encontrado actividad antitrombótica en un extracto seco de rizomas frescos de *D. zingiberensis*, el cual contenía principalmente diosgenina. En este estudio se emplearon ratas y ratones tratados con Xue-sai-tong (XST, producto utilizado como terapia para la trombosis en China) o con distintas dosis del extracto (23, 46, y 92 mg/kg). Se midieron los parámetros de coagulación plasmática en PPP, donde se evidenció una prolongación dosis dependiente de TTPa, TP y TT. La agregación plaquetaria inducida por ADP (10  $\mu\text{mol/l}$ ), disminuyó un 47,5% en el grupo tratado con dosis de 92,0 mg/kg. En ratones tratados con el extracto, prolongó significativamente el tiempo de sangrado la cola y el tiempo de coagulación a dosis altas (132,4 mg/kg). En este ensayo también se indujo a tromboembolismo pulmonar en ratones, para lo cual se utilizó colágeno (114  $\mu\text{g/ratón}$ ) y epinefrina (1,83  $\mu\text{g/ratón}$ ); la tasa de protección al administrar el extracto fue de 33,3%. Por otro lado, el extracto también generó un aumento significativo en la velocidad de disolución de coágulos. Respecto a estos resultados se sugirió que este compuesto podría inhibir la vía extrínseca de la coagulación y la formación de fibrina y reducir el riesgo trombótico (153).

### 5.3. Extracto de *Taraxacum officinale*

El diente de león o *Taraxacum officinale*, pertenece a la familia Asteraceae y aunque se cree que es originaria de Europa, hoy se encuentra mundialmente en regiones templadas. Los principales usos que se le han dado en la medicina tradicional oriental están relacionados al tratamiento de: afecciones de vejiga, bazo, hígado; la gota, y la diarrea (154, 155).

La fitoquímica del diente de león es amplia. Se caracteriza por poseer vitaminas (A, C, D, E y B), colina, inositol, lecitina, minerales y oligoelementos. Los componentes que destacan desde el punto de vista biológico presentes tanto en raíces, hojas y flores son las lactonas sesquiterpénicas, compuestos fenólicos, fenilpropanoides, terpenoides, polisacáridos e inulina (154, 156).

La raíz del diente de león se ha estudiado para determinar su efecto inhibitor de la agregación plaquetaria. Para esto se trató PRP humano con extractos de etanol. Posteriormente se realizó un ensayo de agregación plaquetaria, con ADP como agonista observándose una inhibición máxima del 85%, a una concentración del extracto igual a 0,04 g de raíz seca/ml. Al fraccionar los extractos, una fracción que contenía polisacárido de bajo peso molecular inhibía la agregación plaquetaria del 91%, mientras que una fracción enriquecida en triterpenos y esteroides mostró una inhibición del 80% (157).

Un estudio analizó cuatro fracciones fenólicas diferentes de diente de león a fin de estudiar su actividad antitrombótica. Estas fracciones fenólicas aisladas provenían de las hojas (fracciones de metanol al 50% y 85%) y pétalos (fracciones de metanol al 50% y 85%). *In vitro*, se incubaron suspensiones de plaquetas sanguíneas de donantes humanos con las diferentes fracciones empleadas, para estudiar los efectos de estas sobre la coagulación. Se encontró que tres fracciones (hojas al 85%; pétalos al 50% y al 85%) prolongaron el TT significativamente a dosis de 50 µg/mL. Por otro lado ninguna de las fracciones generó daño en las plaquetas (158).

#### **5.4. Extracto de *Paeonia suffruticosa***

Peonía arbórea es el taxón que engloba a ocho especies distintas de peonía, dentro de las cuales encontramos *Paeonia suffruticosa*. Su origen y principal sitio de distribución reside en el continente asiático, específicamente en China desde donde ha sido exportada a diferentes regiones del mundo. Desde la antigüedad se han empleado las raíces, hojas y flores en la medicina tradicional china. A la corteza de las raíces se les atribuye la función eliminar y reducir el calor interno, promover la circulación sanguínea y tratar la amenorrea, la dismenorrea, las llagas en la piel y los moretones (159, 160).

La composición fitoquímica de la corteza de las raíces de esta especie está dada principalmente por esteroides, triterpenos, taninos, paenoles, otros compuestos fenólicos que se encuentran en menor proporción. Las semillas, por su parte, contienen estilbenos dentro de sus compuestos bioactivos (159, 161).

Se ha señalado la presencia de propiedades antitrombóticas de la corteza de la raíz de las distintas especies de la familia Paeoniaceae (159, 162, 163). Un estudio demostró las propiedades antitrombóticas del extracto metanólico de *P. suffruticosa*, tanto *in vitro* como *in vivo*. Los resultados presentaban que dosis de 5,0 g/kg/día prolongaban TP y TT, mientras que no generaban efectos en el TTPa y FIB. Además, se encontró que el extracto en cuestión inhibía la agregación plaquetaria inducida por ADP de manera dosis dependiente y que a su vez disminuía  $\text{TxB}_2$  significativamente y aumentaba 6-ceto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub> . Al estudiar por espectrometría los principales compuestos activos del extracto se identificaron los siguientes: oxipaeoniflorina, tetragalloil glucosa, pentagalloil glucosa y benzoilpeoniflorina (164).

#### **5.5. Extracto de *Vitis vinifera***

*Vitis vinifera* es conocida mundialmente debido a las bayas que produce, las uvas, las cuales poseen distintos usos en el mundo culinario, principalmente ligado a la enología y la

producción y consumo de vinos. Es originaria de Asia Occidental, pero actualmente se distribuye alrededor del mundo en todos los continentes, menos la Antártida (165).

Las semillas de uva son un subproducto de las industrias del vino y jugo de uva. Dentro de su composición, se puede encontrar catequinas, epicatequinas, proantocianidinas ( B1, B2, B3, B4, B1-G, B2-G, B2G', proantocianidina C1, kaempferol, miristil glucósido, quercetina y ácido gálico (166).

La actividad antitrombótica de las semillas de uva ha cobrado interés debido a sus componentes bioactivos. Estudios *in vitro* han demostrado que el extracto de semilla de uva comercial, a concentraciones de 0,5, 5, y 50 µg/ml, modula el proceso de coagulación en el plasma humano, prolongando TTPa, TP y TT (167). Un estudio posterior señaló que un extracto comercial a una concentración de 15 µg/ml, prolongaba significativamente TP y TTPa en sangre total humana. Además, se determinaron las propiedades de tromboelastometría (tiempo de coagulación, tiempo de formación del coágulo y máxima firmeza del coágulo), obteniéndose una reducción en estos parámetros a una concentración de 15 µg/ml del extracto. La agregación plaquetaria estimulada por ADP (6,4 mmol/L) también se ve disminuida a concentraciones de 7,5 µg/ml y 15,0 µg/ml del extracto. Finalmente, se midió la fosforilación de la fosfoproteína estimulada por vasodilatadores utilizando citometría de flujo, donde los resultados revelaron un aumento en su fosforilación, lo cual significa inhibición de P2Y12 y una reducción en la reactividad plaquetaria. Es por esto que el extracto no solo inhibiría la actividad proteolítica de la trombina, sino que también su actividad antiplaquetaria dependería de la inhibición del receptor P2Y12 (168).

### **5.6. Extracto de *Linum usitatissimum***

La semilla de lino o linaza ha sido empleada a través de los siglos con distintos propósitos, tanto industriales como alimenticios. El lino es un cultivo antiguo; su uso data desde milenios a. C., donde se usó en la fabricación de telas y alimentos en regiones de

Europa y Asia. Otros de sus usos culinarios se basan en fuente importante de fibra, aceite y alimento. Su crecimiento se da en casi todos los climas (169, 170).

En su composición destaca la presencia de compuestos y elementos biológicamente activos tales como ácido linolénico, ácido linoleico, lignanos, péptidos cíclicos, polisacáridos, alcaloides, glucósidos cianogénicos (monoglucósidos: linamarina, lotaustralina; diglicósidos: linustatina y neolinustatina) y cadmio (169).

Las semillas de lino se han estudiado para determinar su actividad antitrombótica a partir de un extracto tampón. Este extracto se obtuvo de las semillas secas, pulverizadas y disueltas en tampón Tris-HCl. Luego de someterse a centrifugación, se extrajo un sobrenadante del que se aisló una glicoproteína no enzimática. Utilizando esta última se realizaron pruebas para determinar la actividad anticoagulante en PRP y PPP, incubados previamente con esta glicoproteína. TTPa y el tiempo de sangrado se vieron prolongados, mientras tanto TP se mantuvo sin cambios. Además, 6 µg de esta glicoproteína no enzimática inhibieron la agregación plaquetaria en presencia de los agonistas ADP, epinefrina y AA, en un 70%, 80% y 60% respectivamente. También se estudió la actividad hemolítica y la actividad hemorrágica, llegando a la conclusión de que la glicoproteína no enzimática no era tóxica por naturaleza, debido a que no daña células sanguíneas, ni vasos y tampoco provocó edemas en ratones. Al prolongar TTPa se evidencia que el mecanismo de acción se basa en una interferencia de la vía intrínseca de la coagulación. En conclusión, la glicoproteína no enzimática aislada desde el extracto detiene el proceso de formación de coágulos al inhibir la vía intrínseca de la coagulación sanguínea y la activación plaquetaria también (171).

### **5.7. Extracto de *Angelica shikokiana***

*Angelica shikokiana* es una planta medicinal japonesa usada para tratar diversas complicaciones asociadas a enfermedades cardiovasculares tales como hiperlipidemia,

diabetes, aterosclerosis e hipertensión. También, la preparación de té se utiliza para tratar enfermedades del sistema digestivo, disfunciones hepáticas e hiperlipidemia (172, 173).

Algunos de los compuestos que se han identificado en la parte aérea de esta planta hasta el momento son: triterpenos ( $\alpha$ -glutinol y  $\beta$ -amirina); cumarinas (isoepoxipterixina, isopterixina e hyuganina E); flavonoides (kaempferol, luteolina, quercetina, kaempferol-3-O-glucósido y kaempferol-3-O-rutinósido); ácidos fenólicos (clorogenato de metilo y ácido clorogénico) y otros ( $\beta$ -sitosterol-3-O-glucósido, 5-(hidroximetil)-2- y adenosina) (174).

El estudio de su potencial actividad anticoagulante y antiplaquetaria es reciente. Un extracto metanólico obtenido de la parte aérea de la planta se utilizó para tratar PPP de humanos sanos y evaluar TP, TTPa y TT. Los resultados obtenidos de la medición de estos parámetros mostraron una prolongación significativa y dependiente de la concentración del extracto, a 5, 10 y 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Resultados similares se obtuvieron con los compuestos quercetina, kaempferol, kaempferol-3-O-glucósido y kaempferol-3-O-rutinósido, aislados desde el extracto. El extracto tuvo efectos inhibitorios la agregación plaquetaria frente a los agonistas ADP (10  $\mu\text{mol}/\text{L}$ ) y AA (0,5 mmol / L) a partir de 1,25  $\mu\text{g}/$  y nuevamente ocurrió lo mismo al emplear los compuestos aislados (173).

### **5.8. Extracto de *Diospyros kaki* L.**

Esta especie es conocida debido a su fruto, el caqui o kaki. Es originaria de China y se distribuye en regiones de trópico y subtropical. Sus hojas, en la medicina tradicional China, se usan para tratar úlceras, accidentes cerebro vasculares y hematemesis (175).

La fitoquímica de esta planta está dada principalmente por flavonoides, como el kaempferol, la quercetina, miricitrina, rutina y los glucósidos derivados del 3'-glucosilo; terpenoides ácido oleanólico y ácido ursólico; naptquinonas; fotosteroles; cumarinas y taninos, entre otros (175).

En 2005, un estudio purificó una fracción anticoagulante de esta especie. Utilizando esta fracción se realizaron las pruebas de la coagulación, quedando en evidencia que una incubación previa de plasma humano con la fracción aislada prolongaría el TT, TTPa y TP. La prolongación de TT fue de 2 y 3 veces respecto al control negativo a concentraciones de 5,3 y 13,1 pg/mL, respectivamente. El TTPa y el TP se prolongaron en un grado menor requiriendo mayores concentraciones del extracto para alcanzar el doble de lo obtenido en el control, siendo estas de 4,5 y 10 pg/mL, respectivamente. La formación de fibrina catalizada por trombina se inhibió de forma competitiva. El mecanismo de acción por el cual actúa esta fracción anticoagulante, es la inhibición de la trombina al unirse a un exosito de esta (176).

En un estudio posterior se analizaron las propiedades antitrombóticas de un extracto etanólico de *D. kaki*, y de los flavonoides catequina, epicatequina y galato de epicatequina, aislados por cromatografía. Se utilizó PPP de humanos sanos para los ensayos de agregación plaquetaria donde los agonistas empleados fueron AA (0,5 mM), ADP (5  $\mu$ M) y colágeno (2  $\mu$ g/mL). La agregación plaquetaria inducida por AA fue significativamente reducida por el extracto (1 mg/mL), por catequina (10  $\mu$ M), por epicatequina (10  $\mu$ M) y por galato de epicatequina (10  $\mu$ M). Sin embargo, la agregación plaquetaria inducida por ADP y colágeno no se vio afectada significativamente. El extracto tuvo efectos anticoagulantes prolongando significativamente TTPa y TP, a una concentración de 0,1 mg/mL. Catequina y galato de epicatequina prolongaron TTPa a concentraciones superiores o iguales a 0,5  $\mu$ M, mientras que epicatequina lo hizo a concentraciones superiores o iguales a 1  $\mu$ M. Se midió la generación de serotonina encontrándose que el extracto, a concentración de 0,5 mg/mL, generaba una disminución en la producción de esta. El extracto y los flavonoides aislados inhibieron la generación de TxB<sub>2</sub> y expresión de *p*-selectina. *In vivo* el extracto y los flavonoides aislados prolongaron el tiempo de sangrado de cola de ratón. De esta manera se tienen evidencias *in vitro* e *in vivo* de la actividad antitrombótica que presente en el extracto de hojas de caqui (177).

### 5.9. Extracto de *Lycium barbarum* L.

*Lycium barbarum* L. es un arbusto que crece en el noroeste de China, suroeste de Europa y regiones mediterráneas. Ha estado presente en la medicina tradicional china desde hace siglos debido al valor nutritivo de sus frutos y a la creencia de que fortalecía ojos, hígado y riñones (178, 179).

Los componentes activos de sus frutos y hojas incluyen polisacáridos, zeaxantina, cerebrósido, trazas de zinc, hierro y cobre, betaína,  $\beta$ -sitosterol, ácido *p*-cumárico y ácido cítrico, tartárico, quínico, málico, oxálico y fumárico (178, 180).

Se han estudiado los efectos antitrombóticos de los polisacáridos presentes en las hojas de *L. barbarum*. Para esto se preparó un extracto de agua caliente y etanol, que fue purificado usando una columna de dietilaminoetilcelulosa. La actividad anticoagulante se determinó evaluando TTPa y TP en PRP tratado con distintas concentraciones de polisacárido aislado. El TTPa se vio prolongado significativamente a concentraciones de 0,5-4 mg/mL del extracto, mientras que el TP no varió. Los polisacáridos aislados también inhibieron la agregación plaquetaria inducida por AA (100 Mm), ADP (2,5  $\mu$ mol) y trombina (0,5 U/ml) con IC<sub>50</sub> de 0,069, 0,119 y 0,259 mg/mL, respectivamente. Resultados posteriores mostraron que el extracto inhibía significativamente la actividad de COX 1 y la producción de TxB<sub>2</sub>, lo que sugiere que los efectos antiplaquetarios se producirían a través de la vía COX. Finalmente, un estudio adicional mostró que los carboxilos presentes en estos polisacáridos eran los principales responsables de su actividad antiplaquetaria (181).

**Tabla 4: Extractos naturales con actividad antiplaquetaria y anticoagulante**

**Fuente:** Elaboración propia Urrutia, M. (2021)

Especie en estudio	Origen y/o Distribución	Usos en la medicina tradicional	Principales componentes bioactivos	Métodos de extracción	Ensayo realizado	Agonistas utilizados	Resultados principales	Mecanismo de acción propuesto
<i>Ginkgo biloba</i>	China/Asia, Europa y América	Tratar trastornos circulatorios, cerebrales, y enfermedades respiratorias	Trilactonas terpénicas y flavonoides	Extracto de hojas preparado	<i>In vitro</i>	Colágeno (2~3 µg/ml)	A 40 µg/ml inhibe agregación plaquetaria inducida por colágeno. Presenta sinergismo con fármaco cilostazol	Inhibe acción de la trombina ocupando su sitio activo
					<i>In vivo</i>	FeCl <sub>3</sub> , colágeno y epinefrina	La administración del extracto junto al fármaco cilostazol mejora la supervivencia en ratones con trombosis	
				Compuestos aislados	<i>In vitro</i>	---	Inhibe trombina con un IC <sub>50</sub> que va de 8,05 M a 17,83 M	
<i>Dioscorea zingiberensis</i>	Asia	Tratar distensión abdominal, frío mortal en manos y pies, disentería anoréxica, micción frecuente	Saponinas esteroides y compuestos fenólicos	Extracto seco de rizomas frescos, extraído por Soxhlet	<i>In vitro</i>	ADP (10 µmol/l)	agregación plaquetaria inducida por ADP	Inhibe formación de fibrina y la vía extrínseca de la coagulación
					<i>In vivo</i>	ADP (10 µmol/l)	Dosis de 23 mg/kg prolongan TTPa, TP y TT. Dosis de 132,4 mg/kg prolongan tiempo de sangrado y de coagulación. Dosis de 92,0 mg/kg disminuye agregación plaquetaria inducida por ADP en 47,5%	

Especie en estudio	Origen y/o Distribución	Usos en la medicina tradicional	Principales componentes bioactivos	Métodos de extracción	Ensayo realizado	Agonistas utilizados	Resultados principales	Mecanismo de acción propuesto
<i>Taraxacum officinale</i>	Europa/zonas templadas	En afecciones de vejiga, bazo, hígado; la gota, y la diarrea	Lactonas sesquiterpénicas, fenilpropanoides, terpenoides, polisacáridos e inulina	Extractos metanólicos de hojas y pétalos	<i>In vitro</i>	---	A 50 µg/ml prolongó TT	Tendría acción sobre la trombina, ya que uno de sus efectos es la prolongación de TT
				Extracto etanólico de la raíz	<i>In vitro</i>	ADP	A 0,04 g de raíz seca/ml inhibe en un 85% la agregación plaquetaria	
<i>Paeonia suffruticosa</i>	China/mundial	Tratar “calor interno”, amenorrea, dismenorrea, llagas en la piel y moretones; promover la circulación	Esteroides, triterpenos, taninos, paenoles	Extracto metanólico de la corteza de la raíz	<i>In vitro</i>	ADP	Inhíbe agregación plaquetaria inducida por ADP	Efecto antitrombótico mediado por modulación de equilibrio PGI/Tx
					<i>In vivo</i>	---	Dosis de 5,0 g/kg/día, prolongan TP y TT Dosis de 2,5 g/kg/día prolongan TT	
<i>Vitis vinífera</i>	Asia occidental /Mundial	Utilizada en la producción de vinos y	Ácidos grasos y compuestos fenólicos, flavonoles y ácido fenólico	Extracto comercial de semilla de uva	<i>In vitro</i>	ADP (6,4 mmol/L)	A 7,5 µg/ml y 15,0 µg/ml inhibe significativamente la agregación plaquetaria inducida por ADP. A 0,5, 5 y 50 µg/ml se prolongan TTPa, TP, y TT	Su actividad antiplaquetaria depende del receptor P2Y12. Inhibe la actividad de la trombina,
<i>Linum usitatissimum</i>	India y Egipto/mundial	Tratar dolor abdominal. Utilizado	Ácidos grasos, péptidos cíclicos, polisacáridos,	Glicoproteína aislada de un extracto tampón	<i>In vitro</i>	AA (5 µM), ADP (10 µM) y	Al añadir 6 µg del extracto la agregación plaquetaria inducida por ADP, epinefrina y AA se	Inhibe la vía intrínseca de la coagulación

Especie en estudio	Origen y/o Distribución	Usos en la medicina tradicional	Principales componentes bioactivos	Métodos de extracción	Ensayo realizado	Agonistas utilizados	Resultados principales	Mecanismo de acción propuesto
		como alimento y fibra	alcaloides, glucósidos cianogénicos y cadmio	de la semilla de lino		epinefrina (5 $\mu$ M)	inhibe en un 70%, 80% y 60%. TTPa y el tiempo de sangrado se ven prolongados	sanguínea y la activación plaquetaria
<i>Angelica shikokiana</i>	Asia	Tratar enfermedades del sistema digestivo, cardiovasculares, diabetes, disfunción hepáticas e hiperlipidemia	Triterpenos, cumarinas, flavonoides, ácidos fenólicos y otros	Extracto metanólico de parte aérea seca	<i>In vitro</i>	ADP (10 $\mu$ mol/L) y AA (0,5 mmol/L)	A 1,25 $\mu$ g/mL inhibe la agregación plaquetaria inducida por ADP y AA. TP, TTPa y TT se prolongan significativamente a partir de 5 $\mu$ g/mL de	Inhibe las vías extrínsecas, intrínsecas y comunes de las cascadas de coagulación. La presencia de quercetina inhibe competitivamente la trombina
<i>Diospyros kaki L</i>	Asia	Ulceras, accidentes cerebro vasculares y tratamiento de hematemesis	Flavonoides, terpenoides, naptquinonas, fostenoles cumarinas y taninos	Extracto etanólico de las hojas	<i>In vitro</i>	AA (0,5 mM), ADP (5 $\mu$ M) y colágeno (2 $\mu$ g/mL)	A 1 mg/mL disminuye agregación plaquetaria inducida por AA. A una concentración de 0,1 mg/mL prolonga significativamente TTPa y TP	Inhiben significativamente la generación de serotonina, TxA <sub>2</sub> y p-selectina
					<i>In vivo</i>	---	Prolonga tiempo de sangrado de cola	
<i>Lycium barbarum L.</i>	China, Europa y regiones	Utilizado como alimento nutritivo que	Polisacáridos, compuestos fenólicos	Extracto de agua y etanol,	<i>In vitro</i>	AA (100 Mm), ADP (2,5 $\mu$ mol) y	Inhibe agregación plaquetaria inducida por AA, ADP y trombina	Actúa a nivel de COX. Los carboxilos en el polisacárido

Especie en estudio	Origen y/o Distribución	Usos en la medicina tradicional	Principales componentes bioactivos	Métodos de extracción	Ensayo realizado	Agonistas utilizados	Resultados principales	Mecanismo de acción propuesto
	mediterráneas	fortalece ojos, hígado y riñones		purificados de las hojas		trombina (0,5 U/ml)	con un IC <sub>50</sub> de 0,069, 0,119 y 0,259 A 0,5–4 mg/mL TTPa se prolongan	son los responsables de su actividad antiplaquetaria.

**AA:** Ácido araquidónico, **ADP:** Adenosín difosfato **COX:** Ciclooxygenasa, **IC<sub>50</sub>:** Concentración inhibitoria media máxima, **MAPK:** Proteína quinasas activadas por mitógenos, **PI3K:** Fosfatidilinositol 3-quinasa, **PAF:** Factor activador de plaquetas, **PGI:** prostaciclina **TP:** Tiempo de protrombina, **TRAP-6:** Activador del receptor de trombina para el péptido 6, **TT:** Tiempo de trombina, **TTPa:** Tiempo de tromboplastina parcial activado, **Tx:** Tromboxano

## 6. Extractos naturales con actividad antiplaquetaria y fibrinolítica

### 6.1. Extracto de *Lagenaria siceraria*

*Lagenaria siceraria* es también conocida como calabaza de botella a causa de su peculiar forma. Es procedente de África y se distribuye en regiones tropicales y subtropicales. Su uso como elemento en la medicina tradicional radica en la capacidad que posee el jugo de fruta fresca de calabaza para tratar flatulencias, diabetes mellitus, hipertensión, enfermedades del hígado y también es utilizado como diurético (182, 183).

Su fitoquímica está dada por la presencia de alcaloides, fenoles, taninos, flavonoides y compuestos esteroides. Contiene 13 aminoácidos y es una buena fuente de vitamina B y ácido ascórbico. Otros compuestos de relevancia aislados desde los frutos son los triterpenoides, ácido oleanólico,  $\beta$ -sitosterol, campesterol, kaempferol e isoquercitrina (184).

Un extracto metanólico de esta especie ha mostrado potencial fibrinolítico generando lisis del 54,72% de un coágulo plasmático a una concentración de 100 mg/mL. A partir de este extracto se aisló el compuesto kaempferol el cual, a una concentración de 100 mg/mL, generó lisis del 77,37% del coágulo (185). Otro estudio señaló que *L. siceraria* prolongaba significativamente el tiempo de sangrado de cola en ratones tratados con dosis de 50, 100 y 250 mg/kg. Por otro lado, dosis de 250, 500 y 1000 mg/kg administrados a ratones redujeron significativamente la mortalidad de estos al inducir tromboembolismo pulmonar. *In vitro*, el extracto inhibió la agregación plaquetaria inducida por ADP ( $1 \times 10^{-5}$  M), a una concentración de 200 mg/mL, teniendo un  $IC_{50}$  de 15,84 mg/mL. El extracto aumentó la recalcificación del plasma de forma dependiente de la dosis a concentraciones de 10, 20, 50, 100 y 200 mg/mL. Finalmente, es importante señalar que se realizaron estudios para determinar la presencia de toxicidad aguda en un grupo de ratas frente al extracto donde no se produjo muerte en las que recibieron hasta 2000 mg/kg (186).

**Tabla 5: Extractos naturales con actividad antiplaquetaria y fibrinolítica**

**Fuente:** Elaboración propia Urrutia, M. (2021)

Espece en estudio	Origen y/o Distribución	Usos en la medicina tradicional	Principales componentes bioactivos	Métodos de extracción	Ensayo realizado	Agonistas utilizados	Resultados principales	Mecanismo de acción propuesto
<i>Lagenaria siceraria</i>	África/ regiones tropicales y subtropicales	Tratar flatulencias, diabetes mellitus, hipertensión, enfermedades del hígado	Triterpenoides, alcaloides, fenoles, taninos, flavonoides y compuestos esteroides	Extracto etanólico de los frutos	<i>In vitro</i>	ADP ( $1 \times 10^{-5}$ M)	200 mg/mL, mostró IC <sub>50</sub> de 15,84 mg/mL	Se desconoce el mecanismo de acción
					<i>In vivo</i>	ADP (0,7 mg/g)	Dosis de 50, 100 y 250 mg/kg aumentaron el tiempo de sangrado de cola de ratón.	
				Extracto matanólico de los frutos	<i>In vitro</i>	---	A 100 mg/mL genera un 54,72% de lisis del coágulo	

**ADP:** Adenosín difosfato, **IC<sub>50</sub>:** Concentración inhibitoria media máxima

## 7. Extractos naturales con actividad anticoagulante, antiplaquetaria y fibrinolítica

### 7.1. Extracto de *Campomanesia xanthocarpa*

Esta especie es conocida popularmente como guabiroba, y se distribuye por el sur de Brasil, Argentina y Paraguay, donde sus hojas se utilizan popularmente en el tratamiento de la disentería, problemas de estómago, fiebre, inflamación, diarrea, colesterol elevado e infecciones de vejiga y uretra (187).

Su composición varía dependiendo de las condiciones en las que se desarrolla la planta. Tanto los frutos como las hojas presentan compuestos fenólicos tales como los flavonoides rutina, quercetina, catequina, miricitrina y kaempferol; los ácidos fenólicos como

el ácido gálico, ácido clorogénico, ácido cafeico; y otros compuestos como carotenoides, estilbenos, lignanos y taninos (188-191).

En ratones tratados con 30 y 100 mg/kg/día de un extracto acuoso de hojas secas de *C. xanthocarpa*, se prolongaron significativamente los parámetros TP y TTPa, respectivamente. La agregación plaquetaria inducida por ADP (10  $\mu$ M) en PRP de ratones, fue inhibida en un  $36 \pm 5\%$  a una concentración de 1000  $\mu$ g/mL del extracto. Por otro lado, la actividad fibrinolítica se estudió utilizando coágulos de sangre humana y de ratón a los que les fue añadido el extracto. El coágulo fue disuelto, con una concentración efectiva media máxima (CE<sub>50</sub>) del extracto de 21  $\mu$ g/mL, en el caso de los ratones, y de 11  $\mu$ g/mL, en el caso de la sangre humana. *In vivo*, en un modelo de tromboembolismo pulmonar agudo inducido por colágeno (12 mg/kg) y epinefrina (1 mg/kg), el extracto previno la parálisis en un 80% al administrar dosis de 100 mg/kg/día. También se determinó el tiempo de sangrado de cola al administrar dosis de 30 y 100 mg/kg/día del extracto, siendo este de  $24,3 \pm 6,6$  y  $43,4 \pm 14,5$   $\mu$ L respectivamente; valores menores comparados con el tiempo de sangrado de cola al administrar AAS. La citotoxicidad sobre plaquetas se descartó, ya que los niveles de LDH no aumentaron al exponer a las plaquetas a altas concentraciones del extracto, además de la ausencia en la promoción de actividad ulcerogénica gástrica (192, 193).

Considerando estos resultados se realizó otro estudio en el que, de 23 sujetos sanos, 8 se sometieron a dosis de 1000 mg de polvo encapsulado de hojas *C. xanthocarpa*; 7 fueron control positivo (sujetos tratados con AAS); y en un tercer grupo se estudió el sinergismo que podría tener con el AAS, administrando 500 mg de *C. xanthocarpa* y 50 mg de AAS. Después de 5 días de tratamiento se extrajo sangre venosa desde la cual se obtuvo PRP, que se utilizó para ensayos de agregación plaquetaria, inducida por AA (1,5 mM) y ADP (10  $\mu$ M). El tratamiento con *C. xanthocarpa* y el estudio del sinergismo redujeron en  $8 \pm 13,5\%$  y  $12,5 \pm 5\%$  la agregación plaquetaria inducida por ADP, mientras que la reducción fue de  $46 \pm 15\%$  y  $69,3 \pm 6\%$  al utilizar AA como agonista (187).

## 7.2. Extracto de *Clerodendrum colebrookianum*

*Clerodendrum colebrookianum*, Glory Bower de las Indias Orientales o Nefafu, se distribuye por el noreste de India y forma parte importante de la medicina tradicional de este país, donde se utiliza para tratar la hipertensión cardíaca, trastornos hepáticos, mareos enfermedades a la piel entre otros (194, 195).

Hasta el momento se ha aislado una fracción anticoagulante activa a partir de *C. colebrookianum*, en la que se encontró presencia de fitoquímicos tales como alcaloides, flavonoides y fitoles (195).

A partir de un extracto acuoso bruto de las hojas de esta planta se aisló y caracterizó una fracción anticoagulante activa junto con una proteasa fibrinogenolítica (clerofibrasa). Se describió actividad fibrinogenolítica, determinada mediante análisis SDS-PAGE de la degradación de FIB/fibrina. También se evidenció una prolongación en el tiempo de coagulación de PPP cuando estaban presentes la fracción anticoagulante activa o la clerofibrasa, existiendo saturación de la actividad anticoagulante a una concentración de 3,0 µg/ml. *In vivo*, en ratones tratados con una dosis de 50 mg/kg de la fracción anticoagulante se prolongaron significativamente TP, TTPa, tiempo de sangrado de la cola y tiempo de coagulación de calcio plasmático. En cuanto a la clerofibrasa, fue clasificada como serina proteasa y se determinó que su actividad no estaba influenciada por inhibidores de proteasas del plasma. En un modelo de trombosis en ratones se inhibió la formación de trombos en la cola a partir de 12,5 mg/kg. *In vitro*, tanto la fracción anticoagulante activa, como la cleofibrasa, mostraron actividad de ruptura de coágulos. Por otro lado, ambos elementos en estudio carecían de citotoxicidad y de actividad hemolítica. Los compuestos en estudio mostraron actividad antiplaquetaria e inhibición de la agregación plaquetaria inducida por colágeno (6,2 nM) y ADP (30 µM). Finalmente, se encontró que a concentraciones de 20,0 µg/ml no existía presencia de citotoxicidad ni hemólisis, en células y en eritrocitos de mamífero, respectivamente (195).

**Tabla 6: Extractos naturales con actividad anticoagulante, antiplaquetaria y fibrinolítica**

**Fuente:** Elaboración propia Urrutia, M. (2021)

Especie en estudio	Origen y/o Distribución	Usos en la medicina tradicional	Principales componentes bioactivos	Métodos de extracción	Ensayo o realizado	Agonistas utilizados	Resultados principales	Mecanismo de acción propuesto
<i>Campomanesia xanthocarpa</i>	Sudamérica	Astringente, para tratar diarrea, infecciones de vejiga y uretra, disentería, fiebre, inflamación y reumatismo	Compuestos fenólicos como flavonoides y ácidos fenólicos. Carotenoides, estilbenos, lignanos y taninos	Extracto acuoso de hojas	<i>In vitro</i>	ADP (10 µM)	A 1000 µg/mL inhibe agregación plaquetaria, inducida por ADP en $36 \pm 5\%$ . Disuelve coágulos, con CE <sub>50</sub> de 21 µg/mL y 11 µg/mL.	Se desconoce el mecanismo de acción
					<i>In vivo</i>	---	Dosis de 100 mg/kg/día prolonga TTPa y previene tromboembolia pulmonar inducida por colágeno y epinefrina. No altera tiempo de sangrado de cola	
				No se empleó extracto como tal, sino que se administró el polvo encapsulado	<i>In vivo</i>	Colágeno (12 mg/kg) y epinefrina (1 mg/kg) AA (1,5 mM) y ADP (10 µM)	El consumo de 1000 mg de polvo encapsulado durante 5 días disminuye agregación plaquetaria inducida por AA y ADP	

Especie en estudio	Origen y/o Distribución	Usos en la medicina tradicional	Principales componentes bioactivos	Métodos de extracción	Ensayo o realizado	Agonistas utilizados	Resultados principales	Mecanismo de acción propuesto
<i>Clerodendrum colebrookianum</i>	Noreste de India	Tratar de hipertensión cardíaca, trastornos hepáticos, mareos enfermedades a la piel	Glucósidos, alcaloides, flavonoides y fitoles	Extracto acuoso bruto de las hojas	<i>In vitro</i>	Colágeno (6,2 nM) y ADP (30 μM)	Inhibe agregación plaquetaria inducida por colágeno y ADP Genera ruptura de coágulos	Presenta actividad fibrinolítica e inhibición de la agregación plaquetaria
					<i>In vivo</i>	---	Dosis de 50 mg/kg prolongan sangrado de cola, TP y TTPa significativamente. Dosis desde 12,5 mg/kg inhiben formación de trombos	

**AA:** Ácido araquidónico, **ADP:** Adenosín difosfato, **CE<sub>50</sub>:** Concentración efectiva que inducen el 50% del efecto, **TP:** Tiempo de protrombina, **TTPa:** Tiempo de tromboplastina parcial activado

## **9. Potencial terapéutico de los distintos extractos naturales**

Considerando la alta prevalencia de las patologías asociadas a trombosis, ha habido una exploración creciente de potenciales terapias que puedan derribar algunas de las limitaciones que presentan los fármacos antitrombóticos utilizados en la actualidad. Diversos estudios han dejado en evidencia la capacidad antitrombótica de distintos extractos naturales.

Para explotar el potencial terapéutico de un extracto en estudio se requiere considerar una serie de aspectos relevantes que deben enfocarse en caracterizar completamente al extracto en cuestión, y sus efectos fisiológicos

Un aspecto por evaluar es la actividad tóxica del extracto. Dentro de los distintos estudios citados, no en todos se realizó un estudio toxicológico, por lo que se debería ahondar más en este aspecto para así tener claridad respecto a las dosis que podrían generar efectos tóxicos en el organismo. Por otro lado, hay extractos que fueron analizados toxicológicamente encontrando resultados positivos, donde no se evidenciaban efectos tóxicos bajo las dosis estudiadas. El estudio de los efectos hemorrágico también se encuentra asociado a este aspecto, ya que contribuye a evaluar la seguridad de el extracto, por lo que se debiera contar con este tipo de análisis, sobre todo considerando que una de las limitaciones de algunos de los fármacos actuales es la generación de hemorragias (16, 18).

Relacionado a lo anterior, también corresponde evaluar la actividad del extracto en presencia de fármacos antitrombóticos. Es así como en varios estudios de los señalados, se realizó un análisis de la actividad antitrombótica en presencia del extracto y fármacos como el AAS y el cilostazol, encontrándose sinergismo y potenciación de la actividad antitrombótica en más de un estudio.

En cuanto a la actividad antitrombótica de los extractos naturales cabe señalar que en varios de ellos se encontró una actividad antitrombótica mayor que al emplear AAS u otro fármaco antitrombótico similar. Además de señalar que el estudio de extractos con actividad antitrombótica ha incluido a extractos que actúan como anticoagulantes, antitrombóticos y/o fibrinolíticos.

Por otro lado, la evaluación del mecanismo de acción del extracto también es un aspecto importante, ya que permite conocer de qué manera el extracto actúa como antitrombótico y cuál es su diana. Si bien en la mayoría de los extractos señalados anteriormente se conoce su mecanismo de acción, sería bueno que este estudio se realizara en aquellos extractos en los que se desconoce y cuya actividad antitrombótica parece prometedora.

Dentro de los estudios señalados, se presentan ensayos adicionales donde no solo se evalúa la actividad antitrombótica del extracto, sino que también se evalúa la influencia que tiene el método de extracción en esta, actividad. Es por esto que se debe evaluar la actividad antitrombótica empleando más de un método de extracción, para así poder encontrar el método bajo el cual el extracto ejerza mejor su acción.

Finalmente, cabe señalar la importancia del tipo de estudio realizado. Muchos de los extractos señalados solo cuentan con estudios *in vitro* y/o *in vivo* que involucran animales por lo que es necesario que se desarrollen ensayos clínicos en humanos que contribuyan a aportar objetividad al estudio de la acción, seguridad y farmacocinética de los distintos extractos.

Es por esto que para proponer extractos naturales que presenten potencial terapéutico, se requiere profundizar en las distintas aristas ya mencionadas entre otras a fin de que, si llegan a desarrollarse fármacos que provengan de ellos, estos cuenten con evidencia científica sólida.

## CONCLUSIONES

En los últimos años ha existido un aumento en el interés por la medicina tradicional y elementos de origen natural relacionados al tratamiento de la trombosis. Muchas especies mencionadas en este trabajo se han utilizado en la medicina tradicional como promotoras de la circulación, o eliminadoras de la estasis sanguínea, y así mismo se ha visto reflejado en los estudios realizados.

Por otro lado, cabe destacar que en su mayoría los componentes bioactivos presentes en estas especies son polifenoles, carotenoides, proantocianidinas, tocoferoles entre otros grupos de compuestos con características antioxidantes, que pueden proporcionar efectos beneficiosos mediante diversos mecanismos de acción.

La actividad antitrombótica que ha quedado en evidencia al estudiar distintas especies muestra un importante potencial terapéutico que debe ser analizado con mayor profundidad desde distintas aristas y de manera objetiva.

## BIBLIOGRAFÍA

1. OMS. Enfermedades cardiovasculares: Organización Mundial de la Salud; 2017 [Available from: [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds))].
2. Troncoso-Pantoja C, Martínez-Sanguinetti MA, Ulloa N, Celis-Morales C. La mayoría de las enfermedades cardiovasculares se atribuyen a factores de riesgo que podrían ser modificados con cambios de los estilos de vida. *Revista médica de Chile*. 2020;148:126-8.
3. McDonald V, Scully M. Disorders of haemostasis and thrombosis. *Medicine*. 2009;37(3):149-54.
4. Giménez Serrano S. Trombosis. *Clínica y farmacoterapia*. *Farmacia Profesional*. 2003;17(5):54-65.
5. Nardulli G, Lanás Á. Riesgo de hemorragia digestiva con aspirina y antiagregantes plaquetarios. *Gastroenterología y Hepatología*. 2009;32(1):36-43.
6. Eikelboom JW, Hirsh J, Spencer FA, Baglin TP, Weitz JI. Antiplatelet drugs: antithrombotic therapy and prevention of thrombosis: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines. *Chest*. 2012;141(2):e89S-e119S.
7. Palombo EA. Traditional Medicinal Plant Extracts and Natural Products with Activity against Oral Bacteria: Potential Application in the Prevention and Treatment of Oral Diseases. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2011;2011:680354.
8. Kim H-S. Do not put too much value on conventional medicines. *Journal of Ethnopharmacology*. 2005;100(1):37-9.
9. Las enfermedades cardiovasculares: un problema de salud pública y un reto global. *Biomédica*. 2011;31:469-73.
10. Gómez LA. Las enfermedades cardiovasculares: un problema de salud pública y un reto global. *Biomédica*. 2011;31(4).
11. Jiménez Bonilla R. Día mundial de la trombosis. *Acta Médica Costarricense*. 2018;60:100-2.
12. Thrombosis: a major contributor to the global disease burden. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2014;12(10):1580-90.
13. Jerjes-Sanchez C. Venous and arterial thrombosis: a continuous spectrum of the same disease? *Eur Heart J*. 26. England2005. p. 3-4.
14. Palomo I, Pereira J, Palma J. HEMATOLOGÍA. Fisiopatología y diagnóstico Iván Palomo JP, Julia Palma, editor. Talca, Chile2005. 628-46 p.
15. Cubillos-Arango A, Fabregat-Andrés Ó, Fácila L, Morell S. Triple terapia antitrombótica en práctica real: utilidad pronóstica de la escala HAS-BLED. *Revista Colombiana de Cardiología*. 2016;23(2):155-6.
16. Naruse Y, Sato A, Hoshi T, Takeyasu N, Kakefuda Y, Ishibashi M, et al. Triple antithrombotic therapy is the independent predictor for the occurrence of major bleeding complications: analysis of percent time in therapeutic range. *Circ Cardiovasc Interv*. 2013;6(4):444-51.
17. Wallis CJD, Juvet T, Lee Y, Matta R, Herschorn S, Kodama R, et al. Association Between Use of Antithrombotic Medication and Hematuria-Related Complications. *Jama*. 2017;318(13):1260-71.
18. Castilla-Guerra L, Fernández-Moreno MdC, de la Vega-Sánchez JM, Leon Jimenez D. Bleeding risk assessment for stroke patients on antithrombotic therapy. *Clínica e Investigación en Arteriosclerosis (English Edition)*. 2019;31(6):282-8.

19. Hmidani A, Bouhlali EdT, Khouya T, Ramchoun M, Filali-zegzouti Y, Benlyas M, et al. Effect of extraction methods on antioxidant and anticoagulant activities of *Thymus atlanticus* aerial part. *Scientific African*. 2019;5:e00143.
20. Khouya T, Ramchoun M, Amrani S, Harnafi H, Rouis M, Couchie D, et al. Anti-inflammatory and anticoagulant effects of polyphenol-rich extracts from *Thymus atlanticus*: An in vitro and in vivo study. *Journal of Ethnopharmacology*. 2020;252:112475.
21. Choi J-H, Kim D-W, Park S-E, Lee H-J, Kim K-M, Kim K-J, et al. Anti-thrombotic effect of rutin isolated from *Dendropanax morbifera* Leveille. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 2015;120(2):181-6.
22. Bae KH. *The medicinal plants of Korea*. Kyo-Hak Publishing Co, Seoul. 2000;260.
23. Hyun TK, Ko Y-J, Kim E-H, Chung I-M, Kim J-S. Anti-inflammatory activity and phenolic composition of *Dendropanax morbifera* leaf extracts. *Industrial Crops and Products*. 2015;74:263-70.
24. Wolberg AS. Thrombin generation and fibrin clot structure. *Blood reviews*. 2007;21(3):131-42.
25. Yun J-W, Kim S-H, Kim Y-S, Choi EJ, You J-R, Cho E-Y, et al. Preclinical study of safety of *Dendropanax morbifera* Leveille leaf extract: General and genetic toxicology. *Journal of Ethnopharmacology*. 2019;238:111874.
26. Sabir S, Qureshi R, Arshad M, Amjad MS, Fatima S, Masood M, et al. Pharmacognostic and clinical aspects of *Cydonia oblonga*: A review. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*. 2015;5(11):850-5.
27. Abliz A, Aji Q, Abdusalam E, Sun X, Abdurahman A, Zhou W, et al. Effect of *Cydonia oblonga* Mill. leaf extract on serum lipids and liver function in a rat model of hyperlipidaemia. *Journal of Ethnopharmacology*. 2014;151(2):970-4.
28. Zhou W, Abdurahman A, Umar A, Iskander G, Abdusalam E, Berké B, et al. Effects of *Cydonia oblonga* Miller extracts on blood hemostasis, coagulation and fibrinolysis in mice, and experimental thrombosis in rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 2014;154(1):163-9.
29. Zhang X, Yu Q, Jiang H, Ma C, David Wang HM, Wang J, et al. A novel polysaccharide from *Malus halliana* Koehne with coagulant activity. *Carbohydrate Research*. 2019;485:107813.
30. Kong XM, Zhang W, Li CQ, Wei JF, Kang WY. Study on antioxidant activity of *Malus halliana* Koehne. *Natural Product Research and Development*. 2013;25(12):1748-51.
31. Zhang W, Chang MF, Jin JY, Shen Q, Wang JJ, Kang WY.  $\alpha$ -Glucosidase inhibitory activity of *Malus halliana* Koehne. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*. 2014;20(4):84-6.
32. Cui L, Xing M, Xu L, Wang J, Zhang X, Ma C, et al. Antithrombotic components of *Malus halliana* Koehne flowers. *Food and Chemical Toxicology*. 2018;119:326-33.
33. Jia S, Shen M, Zhang F, Xie J. Recent advances in *Momordica charantia*: functional components and biological activities. *International Journal of Molecular Sciences*. 2017;18(12):2555.
34. Sun L, Zhang X, Dong L, Zhang C, Guo P, Wu C. The triterpenoids of the bitter gourd (*Momordica Charantia*) and their pharmacological activities: A review. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2021;96:103726.
35. Wen LJ, Liu WF. Study on extracting and antioxidant activity of flavonoids from *Momordica charantia* L. *Food science*. 2007;9:183-6.
36. Jia S, Shen M, Zhang F, Xie J. Recent Advances in *Momordica charantia*: Functional Components and Biological Activities. *International Journal of Molecular Sciences*. 2017;18(12).
37. Manjappa B, Gangaraju S, Girish KS, Kemparaju K, Gonchigar SJ, Shankar RL, et al. *Momordica charantia* seed extract exhibits strong anticoagulant effect by specifically interfering in

- intrinsic pathway of blood coagulation and dissolves fibrin clot. *Blood Coagulation & Fibrinolysis*. 2015;26(2).
38. He N, Wang P, Niu Y, Chen J, Li C, Kang W-y. Evaluation antithrombotic activity and action mechanism of myricitrin. *Industrial Crops and Products*. 2019;129:536-41.
  39. College JNM. The dictionary of traditional Chinese medicine. Shanghai Sci-Tech Press Shanghai; 1985.
  40. Hong Y, Liao X, Chen Z. Determination of bioactive components in the fruits of *Cercis chinensis* Bunge by HPLC-MS/MS and quality evaluation by principal components and hierarchical cluster analysis. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 2020.
  41. Na M-K, Min B-S, Bae K-H. Antioxidant compounds from *Cercis chinensis* bunge. *Bulletin of the Korean Chemical Society*. 2009;30(11):2765-8.
  42. Aglarova AM, Zilfikarov IN, Severtseva OV. Biological characteristics and useful properties of tarragon (*Artemisia dracunculus* L.) (review). *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2008;42(2):81-6.
  43. Durić K, Kovac Besovic EE, Niksic H, Muratovic S, Sofic E. Anticoagulant activity of some *Artemisia dracunculus* leaf extracts. *Bosnian journal of basic medical sciences*. 2015;15(2):9-14.
  44. Yazdanparast R, Shahriyary L. Comparative effects of *Artemisia dracunculus*, *Satureja hortensis* and *Origanum majorana* on inhibition of blood platelet adhesion, aggregation and secretion. *Vascular pharmacology*. 2008;48(1):32-7.
  45. Okazaki K, Nakayama S, Kawazoe K, Takaishi Y. Antiaggregant effects on human platelets of culinary herbs. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*. 1998;12(8):603-5.
  46. Asgarpanah J, Kazemivash N. Phytochemistry, pharmacology and medicinal properties of *Carthamus tinctorius* L. *Chinese Journal of Integrative Medicine*. 2013;19(2):153-9.
  47. Akihisa T, Yasukawa K, Oinuma H, Kasahara Y, Yamanouchi S, Takido M, et al. Triterpene alcohols from the flowers of compositae and their anti-inflammatory effects. *Phytochemistry*. 1996;43(6):1255-60.
  48. Wu S-h, Zheng C-p, Chen S-y, Cai X-p, Shi Y-j, Liu Z, et al. Anti-thrombotic effect of *Carthamus tinctorius* Linn extracts in rats. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2014;13(10):1637-42.
  49. Su C-Y, Ming Q-L, Rahman K, Han T, Qin L-P. *Salvia miltiorrhiza*: Traditional medicinal uses, chemistry, and pharmacology. *Chinese Journal of Natural Medicines*. 2015;13(3):163-82.
  50. Gao S, Liu Z, Li H, Little PJ, Liu P, Xu S. Cardiovascular actions and therapeutic potential of tanshinone IIA. *Atherosclerosis*. 2012;220(1):3-10.
  51. Feng LX, Jing CJ, Tang KL, Tao L, Cao ZW, Wu WY, et al. Clarifying the signal network of salvianolic acid B using proteomic assay and bioinformatic analysis. *Proteomics*. 2011;11(8):1473-85.
  52. Zhou R, He L-F, Li Y-J, Shen Y, Chao R-B, Du J-R. Cardioprotective effect of water and ethanol extract of *Salvia miltiorrhiza* in an experimental model of myocardial infarction. *Journal of Ethnopharmacology*. 2012;139(2):440-6.
  53. Wu YP, Zhao XM, Pan SD, Guo DA, Wei R, Han JJ, et al. Salvianolic Acid B inhibits platelet adhesion under conditions of flow by a mechanism involving the collagen receptor  $\alpha 2\beta 1$ . *Thrombosis Research*. 2008;123(2):298-305.
  54. Fei Y-x, Wang S-q, Yang L-j, Qiu Y-y, Li Y-z, Liu W-y, et al. *Salvia miltiorrhiza* Bunge (*Danshen*) extract attenuates permanent cerebral ischemia through inhibiting platelet activation in rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 2017;207:57-66.

55. Small E. The relationships of hop cultivars and wild variants of *Humulus lupulus*. *Canadian Journal of Botany*. 1980;58(6):676-86.
56. Zanolli P, Zavatti M. Pharmacognostic and pharmacological profile of *Humulus lupulus* L. *Journal of Ethnopharmacology*. 2008;116(3):383-96.
57. Karabin M, Hudcova T, Jelinek L, Dostalek P. Biotransformations and biological activities of hop flavonoids. *Biotechnology advances*. 2015;33(6):1063-90.
58. Alonso-Esteban JI, Pinela J, Barros L, Ćirić A, Soković M, Calhelha RC, et al. Phenolic composition and antioxidant, antimicrobial and cytotoxic properties of hop (*Humulus lupulus* L.) Seeds. *Industrial Crops and Products*. 2019;134:154-9.
59. Luzak B, Golanski J, Przygodzki T, Boncler M, Sosnowska D, Oszmianski J, et al. Extract from spent hop (*Humulus lupulus* L.) reduces blood platelet aggregation and improves anticoagulant activity of human endothelial cells in vitro. *Journal of Functional Foods*. 2016;22:257-69.
60. Xin G, Wei Z, Ji C, Zheng H, Gu J, Ma L, et al. Xanthohumol isolated from *Humulus lupulus* prevents thrombosis without increased bleeding risk by inhibiting platelet activation and mtDNA release. *Free Radical Biology and Medicine*. 2017;108:247-57.
61. Girzu M, Carnat A, Privat AM, Fialip J, Carnat AP, Lamaison JL. Sedative effect of walnut leaf extract and juglone, an isolated constituent. *Pharmaceutical biology*. 1998;36(4):280-6.
62. Gupta A, Behl T, Panichayupakaranan P. A review of phytochemistry and pharmacology profile of *Juglans regia*. *Obesity Medicine*. 2019;16:100142.
63. Meshkini A, Tahmasbi M. Antiplatelet Aggregation Activity of Walnut Hull Extract via Suppression of Reactive Oxygen Species Generation and Caspase Activation. *Journal of Acupuncture and Meridian Studies*. 2017;10(3):193-203.
64. de Graaff JHH. *The Colourful Past*, Abegg-Stiftung. 2004.
65. Shilpa PN, Venkatabalasubramanian S, Devaraj SN. Ameliorative effect of methanol extract of *Rubia cordifolia* in N-nitrosodiethylamine-induced hepatocellular carcinoma. *Pharmaceutical biology*. 2012;50(3):376-83.
66. Marhoume FZ, Laaradia MA, Zaid Y, Laadraoui J, Oufquir S, Aboufatima R, et al. Anti-aggregant effect of butanolic extract of *Rubia tinctorum* L on platelets in vitro and ex vivo. *Journal of Ethnopharmacology*. 2019;241:111971.
67. Eddouks M, Maghrani M, Lemhadri A, Ouahidi ML, Jouad H. Ethnopharmacological survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes mellitus, hypertension and cardiac diseases in the south-east region of Morocco (Tafilalet). *Journal of ethnopharmacology*. 2002;82(2-3):97-103.
68. Derksen GCH, Van Beek TA. *Rubia tinctorum* L. In: Atta ur R, editor. *Studies in Natural Products Chemistry*. 26: Elsevier; 2002. p. 629-84.
69. Lin W-Y, Kuo Y-H, Chang Y-L, Teng C-M, Wang E-C, Ishikawa T, et al. Anti-platelet aggregation and chemical constituents from the rhizome of *Gynura japonica*. *Planta medica*. 2003;69(08):757-64.
70. Du G, Sun L, Zhao R, Du L, Song J, Zhang L, et al. Polyphenols: Potential source of drugs for the treatment of ischaemic heart disease. *Pharmacology & therapeutics*. 2016;162:23-34.
71. Chapado L, Linares-Palomino PJ, Salido S, Altarejos J, Rosado JA, Salido GM. Synthesis and evaluation of the platelet antiaggregant properties of phenolic antioxidants structurally related to rosmarinic acid. *Bioorganic chemistry*. 2010;38(3):108-14.
72. Vazquez-Armenta FJ, Cruz-Valenzuela MR, Ayala-Zavala JF. Chapter 70 - Onion (*Allium cepa*) Essential Oils. In: Preedy VR, editor. *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*. San Diego: Academic Press; 2016. p. 617-23.

73. Torija ME, Matallana MC, Chalup N. El ajo y la cebolla: de las medicinas antiguas al interés actual. *Boletín de la Real Sociedad Española de Historia Natural Sección Biología*. 2013;107:29-37.
74. Yamada K, Naemura A, Sawashita N, Noguchi Y, Yamamoto J. An onion variety has natural antithrombotic effect as assessed by thrombosis/thrombolysis models in rodents. *Thrombosis Research*. 2004;114(3):213-20.
75. Ro J-Y, Ryu J-H, Park H-J, Cho H-J. Onion (*Allium cepa* L.) peel extract has anti-platelet effects in rat platelets. *SpringerPlus*. 2015;4(1):17.
76. Ammon HPT, Händel M. *Crataegus*, Toxicology and Pharmacology\*,\*\* Part I: Toxicity. *Planta medica*. 1981;43(10):105-20.
77. Li L-Z, Gao P-Y, Song S-J, Yuan Y-Q, Liu C-T, Huang X-X, et al. Monoterpenes and flavones from the leaves of *Crataegus pinnatifida* with anticoagulant activities. *Journal of Functional Foods*. 2015;12:237-45.
78. Lou X, Xu H, Hanna M, Yuan L. Identification and quantification of free, esterified, glycosylated and insoluble-bound phenolic compounds in hawthorn berry fruit (*Crataegus pinnatifida*) and antioxidant activity evaluation. *LWT*. 2020;130:109643.
79. Edwards JE, Brown PN, Talent N, Dickinson TA, Shipley PR. A review of the chemistry of the genus *Crataegus*. *Phytochemistry*. 2012;79:5-26.
80. Caliskan O. Mediterranean hawthorn fruit (*Crataegus*) species and potential usage. *The Mediterranean Diet*: Elsevier; 2015. p. 621-8.
81. Chang W-T, Dao J, Shao Z-H. Hawthorn: potential roles in cardiovascular disease. *The American journal of Chinese medicine*. 2005;33(01):1-10.
82. Arslan R, Bor Z, Bektas N, Meriçli AH, Ozturk Y. Antithrombotic effects of ethanol extract of *Crataegus orientalis* in the carrageenan-induced mice tail thrombosis model. *Thrombosis Research*. 2011;127(3):210-3.
83. Shatoor AS, Soliman H, Al-Hashem F, Gamal BE, Othman A, El-Menshawly N. Effect of Hawthorn (*Crataegus aronia* syn. *Azarolus* (L)) on Platelet Function in Albino Wistar Rats. *Thrombosis Research*. 2012;130(1):75-80.
84. Dalli E, Vallés J, Cosín-Sales J, Santos MT, Moscardó A, Milara J, et al. Effects of hawthorn (*Crataegus laevigata*) on platelet aggregation in healthy volunteers. *Thrombosis Research*. 2011;128(4):398-400.
85. Arslan R, Bektas N, Bor Z, Sener E. Evaluation of the antithrombotic effects of *Crataegus monogyna* and *Crataegus davisii* in the carrageenan-induced tail thrombosis model. *Pharmaceutical Biology*. 2015;53(2):275-9.
86. Tamuly C, Hazarika M, Bora J, Gajurel PR. Antioxidant Activities and Phenolic Content of *Piper wallichii* (Miq.) Hand.-Mazz. *International Journal of Food Properties*. 2014;17(2):309-20.
87. Shi Y-N, Shi Y-M, Yang L, Li X-C, Zhao J-H, Qu Y, et al. Lignans and aromatic glycosides from *Piper wallichii* and their antithrombotic activities. *Journal of Ethnopharmacology*. 2015;162:87-96.
88. Kim SM, Kang SW, Jeon J-S, Jung Y-J, Kim W-R, Kim CY, et al. Determination of major phlorotannins in *Eisenia bicyclis* using hydrophilic interaction chromatography: Seasonal variation and extraction characteristics. *Food Chemistry*. 2013;138(4):2399-406.
89. Eom SH, Lee MS, Lee EW, Kim YM, Kim TH. Pancreatic lipase inhibitory activity of phlorotannins isolated from *Eisenia bicyclis*. *Phytotherapy Research*. 2013;27(1):148-51.
90. Irfan M, Kwon T-H, Yun B-S, Park N-H, Rhee MH. *Eisenia bicyclis* (brown alga) modulates platelet function and inhibits thrombus formation via impaired P2Y<sub>12</sub> receptor signaling pathway. *Phytomedicine*. 2018;40:79-87.
91. Yook CS. *Medicinal plants of Korea*. Seoul: Jinmyeong Publishing Co. 1981;392.

92. Hong C-O, Rhee CH, Won N-H, Choi H-D, Lee K-W. Protective effect of 70% ethanolic extract of *Lindera obtusiloba* Blume on tert-butyl hydroperoxide-induced oxidative hepatotoxicity in rats. *Food and Chemical Toxicology*. 2013;53:214-20.
93. Niwa M, Iguchi M, Yamamura S. Three new obtusilactones from *Lindera obtusiloba* Blume. *Chemistry Letters*. 1975;4(7):655-8.
94. Park J-C, Yu YB, Lee JH. Isolation and structure elucidation of flavonoid glycosides from *Lindera obtusiloba* BL. *Journal of the Korean Society of Food and Nutrition (Korea Republic)*. 1996.
95. Komae H, Hayashi H. Phytosterols of the trunks of *Lindera obtusiloba*. *Phytochemistry*. 1972.
96. Kwon HC, Choi SU, Lee JO, Bae KH, Zee OP, Lee KR. Two new lignans from *Lindera obtusiloba* blume. *Archives of pharmacal research*. 1999;22(4):417-22.
97. Kwon HC, Baek NI, Choi SU, Lee KR. New cytotoxic butanolides from *Lindera obtusiloba* BLUME. *Chemical and pharmaceutical bulletin*. 2000;48(5):614-6.
98. Jung-Ok LEE, Chulyoung KIM, Seung-Woo LEE, Min-Ho OAK. Antiplatelet and antithrombotic activities of *Lindera obtusiloba* extract in vitro and in vivo. *The Korean Society of Applied Pharmacology*. 2010;18(2):205-10.
99. Kim JH, Lee J, Kang S, Moon H, Chung KH, Kim KR. Antiplatelet and Antithrombotic Effects of the Extract of *Lindera obtusiloba* Leaves. *Biomolecules & therapeutics*. 2016;24(6):659-64.
100. Li M-C, Zhang Y-Q, Meng C-W, Gao J-G, Xie C-J, Liu J-Y, et al. Traditional uses, phytochemistry, and pharmacology of *Toxicodendron vernicifluum* (Stokes) F.A. Barkley - A review. *Journal of Ethnopharmacology*. 2021;267:113476.
101. Jeon WK, Lee JH, Kim HK, Lee AY, Lee SO, Kim YS, et al. Anti-platelet effects of bioactive compounds isolated from the bark of *Rhus verniciflua* Stokes. *Journal of Ethnopharmacology*. 2006;106(1):62-9.
102. Lee J-H, Kim M, Chang K-H, Hong CY, Na C-S, Dong M-S, et al. Antiplatelet effects of *Rhus verniciflua* Stokes heartwood and its active constituents—fisetin, butein, and sulfuretin—in rats. *Journal of medicinal food*. 2015;18(1):21-30.
103. Pereira Freire JA, Barros KBNT, Lima LKF, Martins JM, Araújo YdC, da Silva Oliveira GL, et al. Phytochemistry Profile, Nutritional Properties and Pharmacological Activities of *Mauritia flexuosa*. *Journal of Food Science*. 2016;81(11):R2611-R22.
104. Endress BA, Horn CM, Gilmore MP. *Mauritia flexuosa* palm swamps: Composition, structure and implications for conservation and management. *Forest Ecology and Management*. 2013;302:346-53.
105. Martins RC, Filgueiras TS, de Albuquerque UP. Ethnobotany of *Mauritia flexuosa* (Arecaceae) in a Maroon Community in Central Brazil. *Economic Botany*. 2012;66(1):91-8.
106. Bataglion GA, da Silva FMA, Eberlin MN, Koolen HHF. Simultaneous quantification of phenolic compounds in buriti fruit (*Mauritia flexuosa* L.f.) by ultra-high performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Food Research International*. 2014;66:396-400.
107. Cândido TLN, Silva MR, Agostini-Costa TS. Bioactive compounds and antioxidant capacity of buriti (*Mauritia flexuosa* L.f.) from the Cerrado and Amazon biomes. *Food Chemistry*. 2015;177:313-9.
108. Fuentes E, Rodríguez-Pérez W, Guzmán L, Alarcón M, Navarrete S, Forero-Doria O, et al. *Mauritia flexuosa* Presents *In Vitro* and *In Vivo* Antiplatelet and Antithrombotic Activities. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2013;2013:653257.

109. Rojas-Garbanzo C, Winter J, Montero ML, Zimmermann BF, Schieber A. Characterization of phytochemicals in Costa Rican guava (*Psidium friedrichsthalianum* -Nied.) fruit and stability of main compounds during juice processing - (U)HPLC-DAD-ESI-TQD-MSn. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2019;75:26-42.
110. Gutiérrez RMP, Mitchell S, Solis RV. *Psidium guajava*: A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*. 2008;117(1):1-27.
111. Kamath JV, Rahul N, Kumar CKA, Lakshmi SM. *Psidium guajava* L: A review. *International Journal of Green Pharmacy (IJGP)*. 2008;2(1).
112. Rojas-Garbanzo C, Rodríguez L, Pérez AM, Mayorga-Gross AL, Vásquez-Chaves V, Fuentes E, et al. Anti-platelet activity and chemical characterization by UPLC-DAD-ESI-QTOF-MS of the main polyphenols in extracts from *Psidium* leaves and fruits. *Food Research International*. 2021;141:110070.
113. Sergent E. El cultivo del mango (*Mangifera indica* L.): botánica, manejo y comercialización: CDCH UCV; 1999.
114. Ribeiro SMR, Schieber A. Chapter 34 - Bioactive Compounds in Mango (*Mangifera indica* L.). In: Watson RR, Preedy VR, editors. *Bioactive Foods in Promoting Health*. San Diego: Academic Press; 2010. p. 507-23.
115. Wauthoz N, Balde A, Balde ES, Van Damme M, Duez P. Ethnopharmacology of *Mangifera indica* L. bark and pharmacological studies of its main C-glucosylxanthone, mangiferin. *International Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*. 2007;1(2):112-9.
116. Alañón ME, Palomo I, Rodríguez L, Fuentes E, Arráez-Román D, Segura-Carretero A. Antiplatelet Activity of Natural Bioactive Extracts from Mango (*Mangifera Indica* L.) and its By-Products. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*. 2019;8(11):517.
117. Sai Srinivas SH, Maneesh Kumar M, Prasada Rao UJS. Studies on Isolation and Antioxidant Properties of Bioactive Phytochemicals from Mango Peel Harvested at Different Developmental Stages. *International Journal of Agriculture, Environment and Bioresearch*. 2017;2(2):136-48.
118. Scheldeman X. Distribution and potential of cherimoya (*Annona cherimola* Mill.) and highland papayas (*Vasconcellea* spp.) in Ecuador. 2002.
119. Jamkhande PG, Ajgunde BR, Jadge DR. *Annona cherimola* Mill.(Custard apple): A review on its plant profile, nutritional values, traditional claims and ethnomedicinal properties. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*. 2017;17(3):189-201.
120. Anaya-Esparza LM, Ramírez-Marez MV, Montalvo-González E, Sánchez-Burgos JA. Cherimoya (*Annona cherimola* Mill.). *Fruit and Vegetable Phytochemicals: Chemistry and Human Health*, 2nd Edition. 2017:993-1002.
121. Isas AS, Mariotti Celis MS, Pérez Correa JR, Fuentes E, Rodríguez L, Palomo I, et al. Functional fermented cherimoya (*Annona cherimola* Mill.) juice using autochthonous lactic acid bacteria. *Food Research International*. 2020;138:109729.
122. Mujica Á. El origen de la quínoa y la historia de su domesticación. *Tierra Adentro*. 2015.
123. Fuentes F, Paredes-González X. Nutraceutical perspectives of quinoa: biological properties and functional applications. *FAO and CIRAD: state of the art report of quinoa in the world in*. 2013:286-99.
124. Paško P, Sajewicz M, Gorinstein S, Zachwieja Z. Analysis of selected phenolic acids and flavonoids in *Amaranthus cruentus* and *Chenopodium quinoa* seeds and sprouts by HPLC. *Acta chromatographica*. 2008;20(4):661-72.
125. Repo-Carrasco-Valencia R, Hellström JK, Pihlava J-M, Mattila PH. Flavonoids and other phenolic compounds in Andean indigenous grains: Quinoa (*Chenopodium quinoa*), kañiwa

- (*Chenopodium pallidicaule*) and kiwicha (*Amaranthus caudatus*). *Food Chemistry*. 2010;120(1):128-33.
126. Alarcón M, Bustos M, Mendez D, Fuentes E, Palomo I, Lutz M. In Vitro Assay of Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) and Lupin (*Lupinus* spp.) Extracts on Human Platelet Aggregation. *Plant Foods for Human Nutrition*. 2020;75(2):215-22.
  127. Todorov NA, Pavlov DC, Kostov KD. Lupin (*Lupinus* spp.). *Food and Feed from Legumes and Oilseeds*: Springer; 1996. p. 113-23.
  128. Knecht KT, Sanchez P, Kinder DH. Lupine Seeds (*Lupinus* spp.): History of Use, Use as An Antihyperglycemic Medicinal, and Use as a Food Plant. *Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention*: Elsevier; 2020. p. 393-402.
  129. Khan MK, Karnpanit W, Nasar-Abbas SM, Huma Ze, Jayasena V. Phytochemical composition and bioactivities of lupin: a review. *International journal of food science & technology*. 2015;50(9):2004-12.
  130. Baghalian K, Ziai SA, Naghavi MR, Badi HN, Khalighi A. Evaluation of allicin content and botanical traits in Iranian garlic (*Allium sativum* L.) ecotypes. *Scientia Horticulturae*. 2005;103(2):155-66.
  131. Bhandari SR, Yoon MK, Kwak J-H. Contents of phytochemical constituents and antioxidant activity of 19 garlic (*Allium sativum* L.) parental lines and cultivars. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*. 2014;55(2):138-47.
  132. Shang A, Cao S-Y, Xu X-Y, Gan R-Y, Tang G-Y, Corke H, et al. Bioactive Compounds and Biological Functions of Garlic (*Allium sativum* L.). *Foods*. 2019;8(7).
  133. Rahman K, Lowe GM. Garlic and Cardiovascular Disease: A Critical Review. *The Journal of Nutrition*. 2006;136(3):736S-40S.
  134. Teranishi K, Apitz-Castro R, Robson SC, Romano E, Cooper DKC. Inhibition of baboon platelet aggregation in vitro and in vivo by the garlic derivative, ajoene. *Xenotransplantation*. 2003;10(4):374-9.
  135. Chang HS, Yamato O, Yamasaki M, Maede Y. Modulatory influence of sodium 2-propenyl thiosulfate from garlic on cyclooxygenase activity in canine platelets: Possible mechanism for the anti-aggregatory effect. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*. 2005;72(5):351-5.
  136. Sendl A, Elbl G, Steinke B, Redl K, Breu W, Wagner H. Comparative pharmacological investigations of *Allium ursinum* and *Allium sativum*. *Planta medica*. 1992;58(01):1-7.
  137. Qi R, Liao F, Inoue K, Yatomi Y, Sato K, Ozaki Y. Inhibition by diallyl trisulfide, a garlic component, of intracellular Ca<sup>2+</sup> mobilization without affecting inositol-1,4,5-trisphosphate (IP<sub>3</sub>) formation in activated platelets. *Biochemical Pharmacology*. 2000;60(10):1475-83.
  138. Rahman K, Lowe GM, Smith S. Aged Garlic Extract Inhibits Human Platelet Aggregation by Altering Intracellular Signaling and Platelet Shape Change. *The Journal of Nutrition*. 2016;146(2):410S-5S.
  139. Morihara N, Hino A. Aged garlic extract suppresses platelet aggregation by changing the functional property of platelets. *Journal of Natural Medicines*. 2017;71(1):249-56.
  140. Ninfali P, Angelino D. Nutritional and functional potential of *Beta vulgaris* cicla and rubra. *Fitoterapia*. 2013;89:188-99.
  141. Fuentes-Barría H, Muñoz Peña D, Aguilera Eguía R, González Wong C. Influencia de los compuestos bioactivos de betarraga (*Beta vulgaris* L) sobre el efecto cardio-protector: Una revisión narrativa. *Revista chilena de nutrición*. 2018;45:178-82.
  142. Song F, Zuo X, Zhao Y, Li Q, Tian Z, Yang Y. Betanin-enriched red beet extract attenuated platelet activation and aggregation by suppressing Akt and P38 Mitogen-activated protein kinases phosphorylation. *Journal of Functional Foods*. 2019;61:103491.

143. Safi C, Zebib B, Merah O, Pontalier P-Y, Vaca-Garcia C. Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2014;35:265-78.
144. Silva PEdCe, Barros RCd, Albuquerque WWC, Brandão RMP, Bezerra RP, Porto ALF. In vitro thrombolytic activity of a purified fibrinolytic enzyme from *Chlorella vulgaris*. *Journal of Chromatography B*. 2018;1092:524-9.
145. Chen T-R, Wei L-H, Guan X-Q, Huang C, Liu Z-Y, Wang F-J, et al. Biflavones from *Ginkgo biloba* as inhibitors of human thrombin. *Bioorganic Chemistry*. 2019;92:103199.
146. Mahadevan S, Park Y. Multifaceted Therapeutic Benefits of *Ginkgo biloba* L.: Chemistry, Efficacy, Safety, and Uses. *Journal of Food Science*. 2008;73(1):R14-R9.
147. Bilia AR. *Ginkgo biloba* L. *Fitoterapia*. 2002;73(3):276-9.
148. van Beek TA. Chemical analysis of *Ginkgo biloba* leaves and extracts. *Journal of Chromatography A*. 2002;967(1):21-55.
149. Warriar G, Corzine A. *Ginkgo biloba*. Medicinal and aromatic plants—industrial profiles. 2000;12:517-21.
150. Singh B, Kaur P, Gopichand, Singh RD, Ahuja PS. Biology and chemistry of *Ginkgo biloba*. *Fitoterapia*. 2008;79(6):401-18.
151. Li Y-Y, Lu X-Y, Sun J-L, Wang Q-Q, Zhang Y-D, Zhang J-B, et al. Potential hepatic and renal toxicity induced by the biflavonoids from *Ginkgo biloba*. *Chinese Journal of Natural Medicines*. 2019;17(9):672-81.
152. Zhang X, Jin M, Tadesse N, Dang J, Zhou T, Zhang H, et al. *Dioscorea zingiberensis* C. H. Wright: An overview on its traditional use, phytochemistry, pharmacology, clinical applications, quality control, and toxicity. *Journal of Ethnopharmacology*. 2018;220:283-93.
153. Gong G, Qin Y, Huang W. Anti-thrombosis effect of diosgenin extract from *Dioscorea zingiberensis* C.H. Wright in vitro and in vivo. *Phytomedicine*. 2011;18(6):458-63.
154. González-Castejón M, Visioli F, Rodriguez-Casado A. Diverse biological activities of dandelion. *Nutrition Reviews*. 2012;70(9):534-47.
155. Jędrejek D, Kontek B, Lis B, Stochmal A, Olas B. Evaluation of antioxidant activity of phenolic fractions from the leaves and petals of dandelion in human plasma treated with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe. *Chemico-Biological Interactions*. 2017;262:29-37.
156. Chevallier A. *The encyclopedia of medicinal plants* 1996.
157. Neef H, Cilli F, Declerck PJ, Laekeman G. Platelet anti-aggregating activity of *Taraxacum officinale* Weber. *Phytotherapy Research*. 1996;10(SUPPL. 1).
158. Lis B, Jędrejek D, Stochmal A, Olas B. Assessment of effects of phenolic fractions from leaves and petals of dandelion in selected components of hemostasis. *Food Research International*. 2018;107:605-12.
159. Zhao M, Wu SP. A review of the ethnobotany, phytochemistry and pharmacology of tree peony (Sect. Moutan). *South African Journal of Botany*. 2019;124:556-63.
160. Xiu-yun Z. Herbal Textual Research on MOUTAN CORTEX. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*. 2013(3):44.
161. He C-N, Peng Y, Xu L-J, Liu Z-A, Gu J, Zhong A-G, et al. Three new oligostilbenes from the seeds of *Paeonia suffruticosa*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 2010;58(6):843-7.
162. Hirai A, Terano T, Hamazaki T, Sajiki J, Saito H, Tahara K, et al. Studies on the mechanism of antiaggregatory effect of Moutan Cortex. *Thrombosis Research*. 1983;31(1):29-40.
163. Koo YK, Kim JM, Koo JY, Kang SS, Bae K, Kim YS, et al. Platelet anti-aggregatory and blood anti-coagulant effects of compounds isolated from *Paeonia lactiflora* and *Paeonia suffruticosa*. *Die Pharmazie - An International Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2010;65(8):624-8.

164. Qiu H, Zhang L, Zhu M, Zhang M, Chen J, Feng L, et al. Capture of anti-coagulant active ingredients from Moutan Cortex by platelet immobilized chromatography and evaluation of anticoagulant activity in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2017;95:235-44.
165. Granato D, Magalhães Carrapeiro Md, Fogliano V, van Ruth SM. Effects of geographical origin, varietal and farming system on the chemical composition and functional properties of purple grape juices: A review. *Trends in Food Science & Technology*. 2016;52:31-48.
166. Chen Y, Wen J, Deng Z, Pan X, Xie X, Peng C. Effective utilization of food wastes: Bioactivity of grape seed extraction and its application in food industry. *Journal of Functional Foods*. 2020;73:104113.
167. Bijak M, Bobrowski M, Borowiecka M, Podsędek A, Golański J, Nowak P. Anticoagulant effect of polyphenols-rich extracts from black chokeberry and grape seeds. *Fitoterapia*. 2011;82(6):811-7.
168. Bijak M, Sut A, Kosiorek A, Saluk-Bijak J, Golanski J. Dual Anticoagulant/Antiplatelet Activity of Polyphenolic Grape Seeds Extract. *Nutrients*. 2019;11(1).
169. Shim YY, Gui B, Arnison PG, Wang Y, Reaney MJT. Flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) bioactive compounds and peptide nomenclature: A review. *Trends in Food Science & Technology*. 2014;38(1):5-20.
170. Kulma A, Zuk M, Long SH, Qiu CS, Wang YF, Jankauskiene S, et al. Biotechnology of fibrous flax in Europe and China. *Industrial Crops and Products*. 2015;68:50-9.
171. Nandish SKM, Kengaiyah J, Ramachandraiah C, Chandramma, Shivaiah A, Thirunavukkarasu, et al. Purification and characterization of non-enzymatic glycoprotein (NEGp) from flax seed buffer extract that exhibits anticoagulant and antiplatelet activity. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2020;163:317-26.
172. Okuda H. Pharmaceutical composition comprises extract of *Angelica shikokiana* Makiaio belonging to Umbelliferae. From Japan Kokai Tokkyo Koho, JP. 1985;60260520.
173. Mira A, Alkhiary W, Shimizu K. Antiplatelet and Anticoagulant Activities of *Angelica shikokiana* Extract and Its Isolated Compounds. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*. 2015;23(1):91-9.
174. Mira A, Yamashita S, Katakura Y, Shimizu K. In Vitro Neuroprotective Activities of Compounds from *Angelica shikokiana* Makino. *Molecules*. 2015;20(3).
175. Xie C, Xie Z, Xu X, Yang D. Persimmon (*Diospyros kaki* L.) leaves: A review on traditional uses, phytochemistry and pharmacological properties. *Journal of Ethnopharmacology*. 2015;163:229-40.
176. Sa YS, Kim S-J, Choi H-S. The anticoagulant fraction from the leaves of *Diospyros kaki* L. has an antithrombotic activity. *Archives of pharmacal research*. 2005;28(6):667-74.
177. Ryu R, Jung UJ, Seo Y-R, Kim H-J, Moon BS, Bae J-S, et al. Beneficial effect of persimmon leaves and bioactive compounds on thrombosis. *Food Science and Biotechnology*. 2015;24(1):233-40.
178. Zhao J, Li H, Xi W, An W, Niu L, Cao Y, et al. Changes in sugars and organic acids in wolfberry (*Lycium barbarum* L.) fruit during development and maturation. *Food Chemistry*. 2015;173:718-24.
179. Zeng P, Li J, Chen Y, Zhang L. Chapter Seventeen - The structures and biological functions of polysaccharides from traditional Chinese herbs. In: Zhang L, editor. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*. 163: Academic Press; 2019. p. 423-44.
180. Chang RC-C, So K-F. Use of anti-aging herbal medicine, *Lycium barbarum*, against aging-associated diseases. What do we know so far? *Cellular and Molecular Neurobiology*. 2008;28(5):643-52.

181. Lin S, Al-Wraikat M, Niu L, Zhou F, Zhang Y, Wang M, et al. Degradation enhances the anticoagulant and antiplatelet activities of polysaccharides from *Lycium barbarum* L. leaves. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2019;133:674-82.
182. Ghule BV, Ghante MH, Yeole PG, Saoji AN. Diuretic activity of *Lagenaria siceraria* fruit extracts in rats. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2007;69(6):817.
183. Mashilo J, Shimelis H, Odindo A. Phenotypic and genotypic characterization of bottle gourd [*Lagenaria siceraria* (Molina) Standl.] and implications for breeding: A Review. *Scientia Horticulturae*. 2017;222:136-44.
184. Kumar A, Partap S, Sharma NK, Jha KK. Phytochemical, ethnobotanical and pharmacological profile of *Lagenaria siceraria*: -A review. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2012;1(3):24-31.
185. Rajput MS, Mathur V, Agrawal P, Chandrawanshi HK, Pilaniya U. Fibrinolytic activity of kaempferol isolated from the fruits of *Lagenaria siceraria* (Molina) Standley. *Natural Product Research*. 2011;25(19):1870-5.
186. Rajput MS, Balekar N, Jain DK. Inhibition of ADP-induced platelet aggregation and involvement of non-cellular blood chemical mediators are responsible for the antithrombotic potential of the fruits of *Lagenaria siceraria*. *Chinese Journal of Natural Medicines*. 2014;12(8):599-606.
187. Otero JS, Hirsch GE, Klafke JZ, Porto FG, de Almeida AS, Nascimento S, et al. Inhibitory effect of *Campomanesia xanthocarpa* in platelet aggregation: Comparison and synergism with acetylsalicylic acid. *Thrombosis Research*. 2017;154:42-9.
188. de Oliveira Raphaelli C, Pereira EdS, Camargo TM, Ribeiro JA, Pereira MC, Vinholes J, et al. Biological activity and chemical composition of fruits, seeds and leaves of guabirobeira (*Campomanesia xanthocarpa* O. Berg – Myrtaceae): A review. *Food Bioscience*. 2021;40:100899.
189. Pereira MC, Steffens RS, Jablonski A, Hertz PF, de O. Rios A, Vizzotto Mr, et al. Characterization and antioxidant potential of Brazilian fruits from the Myrtaceae family. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2012;60(12):3061-7.
190. Schmeda-Hirschmann G. Flavonoids from *calycorectes*, *campomanesia*, *eugenia* and *hexachlamys* species. *Fitoterapia (Milano)*. 1995;66(4):373-4.
191. Klafke JZ, Pereira RLD, Hirsch GE, Parisi MM, Porto FG, de Almeida AS, et al. Study of oxidative and inflammatory parameters in LDLr-KO mice treated with a hypercholesterolemic diet: Comparison between the use of *Campomanesia xanthocarpa* and acetylsalicylic acid. *Phytomedicine*. 2016;23(11):1227-34.
192. Klafke JZ, Arnoldi da Silva M, Fortes Rossato M, Trevisan G, Banderó Walker CI, Martins Leal CA, et al. Antiplatelet, antithrombotic, and fibrinolytic activities of *Campomanesia xanthocarpa*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2012;2012.
193. Viecili PRN, Borges DO, Kirsten K, Malheiros J, Viecili E, Melo RD, et al. Effects of *Campomanesia xanthocarpa* on inflammatory processes, oxidative stress, endothelial dysfunction and lipid biomarkers in hypercholesterolemic individuals. *Atherosclerosis*. 2014;234(1):85-92.
194. Deb L, Dey A, Sakthivel G, Bhattamishra SK, Dutta A. Protective effect of *Clerodendrum colebrookianum* Walp., on acute and chronic inflammation in rats. *Indian journal of pharmacology*. 2013;45(4):376.
195. Gogoi D, Ramani S, Bhartari S, Chattopadhyay P, Mukherjee AK. Characterization of active anticoagulant fraction and a fibrin(ogen)olytic serine protease from leaves of *Clerodendrum colebrookianum*, a traditional ethno-medicinal plant used to reduce hypertension. *Journal of Ethnopharmacology*. 2019;243:112099.