

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL  
DE HUAMANGA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



Efecto antiagregante plaquetario *in vivo* del extracto  
etanólico del fruto de *Morinda citrifolia* L. "noni".

Ayacucho 2017

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:  
QUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR:

Bach. LA ROSA MENDOZA, Alex Edison

AYACUCHO - PERÚ

2019

A mis padres y hermanos  
por su apoyo incondicional  
durante mi vida universitaria.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga por permitirme realizar y terminar mi carrera profesional.

A la Facultad de Ciencias de la Salud, y en especial a la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica y a los docentes de nuestra grandiosa y prestigiosa casa superior de estudios por habernos inculcado conocimientos en el transcurso de nuestra formación profesional.

A mi asesor Dr. Q.F. Edwin Carlos, Enciso Roca por su apoyo profesional.

A mis padres y amigos por su ayuda incondicional a lo largo de mi formación académica.

## ÍNDICE GENERAL

	Pág.
ÍNDICE GENERAL	vii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes de estudio	3
2.2. <i>Morinda citrifolia</i> L. “noni”	7
2.3. Fisiología de la hemostasia	10
2.4. El trombo	12
2.5. Agregación plaquetaria	14
2.6. Fármacos antiagregantes plaquetarios	15
III. MATERIALES Y MÉTODOS	17
3.1. Lugar de ejecución	17
3.2. Población y muestra	17
3.2.1. Población	17
3.2.2. Muestra	17
3.2.3. Unidad experimental	17
3.3. Diseño metodológico para la recolección de datos	18
3.3.1. Procedimiento para la recolección de muestra	18
3.3.2. Secado, molienda	18
3.3.3. Preparación del extracto etanólico	18
3.3.4. Identificación fitoquímica	18
3.3.5. Evaluación del efecto antiagregante plaquetario	19
3.4. Diseño experimental	21
3.5. Análisis estadístico	21
IV. RESULTADOS	23
V. DISCUSIÓN	29
VI. CONCLUSIONES	33
VII. RECOMENDACIONES	35
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37
ANEXOS	43

## ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Factores de la coagulación	13
Tabla 2. Metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de los frutos de <i>Morinda citrifolia</i> L. "noni". Ayacucho 2017	25

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Tiempo de protrombina (TP) para los tratamientos con el extracto etanólico del fruto de <i>Morinda citrifolia</i> L. “noni”. Ayacucho 2017	26
Figura 2. Tiempo de tromboplastina parcial activada (TTP) para los tratamientos con el extracto etanólico del fruto de <i>Morinda citrifolia</i> L. “noni”. Ayacucho 2017	27

## ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Certificado de descripción taxonómica de <i>Morinda citrifolia</i> L. “noni”. Ayacucho, 2017	45
Anexo 2. Inserto del reactivo PLASMASCANN (Tromboplastina cálcica). Ayacucho 2017	46
Anexo 3. Inserto del reactivo APTTest (Tromboplastina parcial activada). Ayacucho 2017	47
Anexo 4. Fases de la coagulación. Ayacucho 2017	48
Anexo 5. Frutos de <i>Morinda citrifolia</i> L. “noni”. Ayacucho, 2017	49
Anexo 6. Procedimientos de la obtención del extracto etanólico de los frutos de <i>Morinda citrifolia</i> L. “noni”. Ayacucho, 2017	50
Anexo 7. Identificación fitoquímica del extracto etanólico de los frutos de <i>Morinda citrifolia</i> L. “noni”. Ayacucho, 2017	51
Anexo 8. Procedimiento del efecto antiagregante plaquetario del extracto etanólico de los frutos de <i>Morinda citrifolia</i> L. “noni”. Ayacucho, 2017	52
Anexo 9. Prueba de comparaciones múltiples del tiempo de protrombina del extracto etanólico de los frutos de <i>Morinda citrifolia</i> L. “noni”. Ayacucho, 2017	53
Anexo 10. Análisis de varianza del tiempo de protrombina del extracto etanólico de los frutos de <i>Morinda citrifolia</i> L. “noni”. Ayacucho, 2017	54
Anexo 11. Prueba de Tukey del tiempo de protrombina del extracto etanólico de los frutos de <i>Morinda citrifolia</i> L. “noni”. Ayacucho, 2017	55
Anexo 12. Prueba de comparaciones múltiples del tiempo de tromboplastina parcial activada del extracto etanólico de los frutos de <i>Morinda citrifolia</i> L. “noni”. Ayacucho, 2017	56
Anexo 13. Análisis de varianza del tiempo de tromboplastina parcial activada del extracto etanólico de los frutos de <i>Morinda citrifolia</i> L. “noni”. Ayacucho, 2017	57
Anexo 14. Prueba de Tukey del tiempo de tromboplastina parcial activada del extracto etanólico de los frutos de <i>Morinda citrifolia</i> L. “noni”. Ayacucho, 2017	58





## RESUMEN

Las enfermedades cardiovasculares (ECV) son la principal causa de mortalidad en el mundo. Varios de los factores de riesgo de las ECV, como dislipidemias, hipertensión arterial y diabetes mellitus, son influenciados por la alimentación. Como objetivo se planteó determinar el efecto antiagregante plaquetario *in vivo* del extracto etanólico del fruto de *Morinda citrifolia* L. “noni”, realizado en los laboratorios de Farmacia de la Facultad de Ciencias de la Salud durante los meses de mayo a octubre del 2017. El tipo de investigación fue básica experimental. Los frutos de *Morinda citrifolia* L. “noni” fue recolectada en el distrito de Samugari, provincia de La Mar, departamento de Ayacucho. Para la determinación del tiempo de protrombina (TP) se utilizó método propuesto por Quick, para el tiempo de tromboplastina parcial activada (TPP) se utilizó el método propuesto por Dacie. Se utilizó 40 ratas de cepa *Holfzman* hembra de 200 a 250 g de peso, las cuales fueron divididas en cinco grupos al azar, grupo I: SSF (5 mL/kg); grupo II: Extracto 50 mg/kg; grupo III: Extracto 100 mg/kg; grupo IV: Extracto 200 mg/kg y grupo V: Aspirina 100 mg/kg. Los metabolitos secundarios presentes fueron taninos, flavonoides, saponinas, esteroides y alcaloides. El tiempo de protrombina a la dosis de 200 mg/kg (14,37 seg.), resultó siendo estadísticamente diferente de la aspirina 100 mg/kg (25,12 seg.). El tiempo de tromboplastina parcial activada resultó mejor a dosis de 200 mg/kg (73,25 seg.), siendo esta estadísticamente diferente a la aspirina 100 mg/kg ( $p < 0,05$ ), también es estadísticamente diferente al extracto 100 mg/kg y 50 mg/kg con 69,0 y 52,12 seg. respectivamente. Se concluye que el extracto etanólico del fruto de *Morinda citrifolia* L. “noni” posee efecto antiagregante plaquetario.

**Palabras clave:** *Morinda citrifolia* L. “noni”, efecto antiagregante plaquetario, protrombina, tromboplastina parcial activada.

## I. INTRODUCCIÓN

Hoy en día, la exploración de alternativas terapéuticas dentro de los productos naturales para aliviar o curar dolencias o afecciones se ha intensificado. La adquisición de nuevos fármacos a partir de la biodiversidad es uno de los ejercicios científicos más importantes, tomando en consideración la potencialidad de encontrar en la biodiversidad nuevas estructuras que puedan constituirse en cabezas de serie, y debido a la creciente tendencia de la población a consumir productos fitoterapéuticos<sup>1</sup>.

Tradicionalmente en diversos pueblos de nuestra costa, sierra y selva se recurren a las plantas medicinales para aliviar diversas enfermedades y/o malestares, surgiendo así la medicina tradicional; esto tiene su origen en la observación y discriminación de nuestros ancestros, que desde la antigüedad, utilizaron diversas plantas medicinales para curar enfermedades, aliviar dolores, etc<sup>2</sup>.

Las enfermedades cardiovasculares (ECV) son la principal causa de mortalidad en el mundo. Varios de los factores de riesgo de las ECV, como dislipidemias, hipertensión arterial y diabetes mellitus, son influenciados por la alimentación. Es conocido que las frutas y hortalizas contienen antioxidantes, y que su consumo en cantidades adecuadas disminuye el riesgo cardiovascular. Sin embargo, su efecto antitrombótico (antiagregante plaquetario, anticoagulante y fibrinolítico) es poco conocido<sup>3</sup>.

Las propiedades curativas atribuidas a la *Morinda citrifolia* L. son innumerables, su uso se ha informado en el tratamiento de la diabetes, hipertensión arterial, cáncer de diferentes localizaciones, y muchas otras enfermedades<sup>4</sup>.

Por tal motivo se planteó el presente trabajo de investigación teniendo en cuenta los siguientes objetivos:

Determinar el efecto antiagregante plaquetario *in vivo* del extracto etanólico del fruto de *Morinda citrifolia* L. “noni”.

Objetivos específicos:

- Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico del fruto de *Morinda citrifolia* L. “noni”.
- Determinar el tiempo de protrombina (TP) y tiempo de tromboplastina parcial activada (TTP) del extracto etanólico del fruto de *Morinda citrifolia* L. “noni”.
- Comparar el efecto antiagregante plaquetario del extracto etanólico del fruto de *Morinda citrifolia* L. “noni” con la aspirina.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes de estudio

Bu y col<sup>5</sup>., realizaron el estudio; Efecto neurofarmacológico de zumo de *Morinda citrifolia* L. Teniendo como objetivo caracterizar el perfil neurofarmacológico de su jugo, en ratones machos, por medio de una batería de pruebas de comportamiento: prueba de Irwin, conducta exploratoria, tiempo de sueño barbitúrico y estereotipias anfetamina-inducidas. A dosis de 450, 900 y 1800 mg/kg que fueron administradas de acuerdo con el peso de jugo seco. Los resultados obtenidos de las diferentes pruebas sugieren la presencia de compuestos químicos no identificados con actividad sedante, especialmente de tipo neuroléptica.

Sánchez y col<sup>6</sup>., realizaron el estudio; Efecto del zumo de *Morinda citrifolia* L. “noni” en modelos de analgesia. Teniendo como objetivo evaluar el efecto del zumo de noni en diferentes modelos de analgesia. Utilizaron dosis (450, 900 y 1800 mg/kg) del zumo de noni, a partir de contenido en peso seco; se administró por vía intraperitoneal a ratones utilizando el modelo de irritación peritoneal por ácido acético 0,6 % y se cuantificó el número de contorsiones o estiramientos. Además, se utilizó el modelo del plato caliente y el de retirada de cola. El zumo de noni fue efectivo de manera dependiente de la dosis en reducir el número de contorsiones inducidas por el ácido acético. En los modelos del plato caliente y de retirada de cola, solo la dosis más alta prolongó de manera estadísticamente significativa el tiempo de reacción. Concluyendo los resultados sugieren que el efecto analgésico de noni es fundamentalmente de mecanismo periférico.

Khoswanto<sup>7</sup>, realizó un estudio sobre el efecto del gel de Noni (*Morinda citrifolia* L.) sobre la aceleración de fibroblastos post-extracción. Con el objetivo de descubrir el efecto del gel de noni en el aumento del número de fibrillas de soldadura después de la extracción del diente de rata Dawley. Este estudio utilizó el diseño de la prueba de investigación popular, trabajando con treinta

colas de ratas macho Dawley, con un peso de 250-300 g, con 3 meses de edad. Se extirparon los dientes en los incisivos de la mandíbula inferior. Los datos muestreados obtenidos se analizaron utilizando ANOVA de una vía. El examen mostró que había una diferencia significativa en la cantidad de fibroblastos entre el grupo tratado con gel y otros dos grupos ( $p < 0,05$ ). Concluyendo la aplicación de gel de noni puede acelerar el aumento en la cantidad de fibroblastos que duran después del tratamiento de los dientes en ratas Dawley.

Garay y Col<sup>8</sup>., realizaron el estudio químico del aceite esencial del fruto de *Morinda citrifolia* L. (noni) que fueron colectados en el Perú, departamento del Ucayali (Pucallpa). La identificación de los compuestos principales del aceite esencial de la pulpa con semillas y cáscaras del fruto fresco del noni se realizó a través del análisis del índice de Kovats; asimismo, del extracto hexánico del fruto fresco se aisló el ácido 3-epi-corosólico, el cual fue identificado por análisis espectroscópico de RMN H y RMN C.

Ayanbule<sup>9</sup>, y col. realizaron el estudio; efecto trombótico en la vena yugular del zumo de *Morinda citrifolia* L. "noni" en ratas macho. Teniendo como objetivo examinar el efecto antitrombótico del extracto en el modelo de trombosis de la vena yugular inducida por cloruro férrico en ratas. Obteniendo el peso de un fragmento de 2 cm de la vena yugular normal fue de  $9,9 \pm 2,1$  mg, mientras que el peso de la vena ocluida en los controles positivos fue de  $30,7 \pm 12$  mg [ $p = 0,001$ ],  $24,7 \pm 6,5$  mg en heparina [ $p = 0,16$ ],  $25,5 \pm 6,5$  mg en zumo al 5 % [ $p = 0,15$ ],  $20,0 \pm 5$  mg en zumo al 10 % [ $p = 0,04$ ] y  $16,1 \pm 5,0$  mg en heparina más zumo al 10 % [ $p = 0,02$ ], respectivamente. La actividad de tiempo de tromboplastina parcial activada aumentó significativamente en heparina,  $60,0 \pm 10,0$  segundos [ $p = 0,002$ ] en comparación con  $16,83 \pm 4,9$  segundos en el control en blanco. Hubo un aumento significativo en zumo al 5 % [ $34,24 \pm 9,6$  segundos,  $p = 0,01$ ], un ligero aumento en el zumo al 10 % [ $24,0 \pm 5,4$  segundos,  $p = 0,06$ ]. La actividad de tiempo de protrombina aumentó significativamente en el grupo de heparina solamente [ $36,52 \pm 3,0$  segundos frente a  $26,85 \pm 0,4$  segundos en el control en blanco,  $p = 0,01$ ). Concluyendo que el zumo de noni tiene un efecto trombótico en la vena yugular y un posible efecto antitrombótico aditivo con heparina mediante la activación del tiempo de tromboplastina parcial activada sin la inducción de trombocitopenia.

Villacorta y Pérez<sup>10</sup>, realizaron la investigación; actividad antioxidante "in Vitro" de las hojas y frutos de *Morinda citrifolia* L. mediante el método de secuestro de

radicales libres 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH). El objetivo del trabajo fue evaluar la actividad antioxidante a través de estudios de los polifenoles, DPPH; de los extractos metanólicos, acuoso y clorofórmico de las hojas y frutos de *Morinda citrifolia* L. En los resultados obtenidos los frutos de noni fueron los que más concentración de polifenoles totales obtuvieron con 26434,94 mg de CTQ/100g. Las Hojas solo tuvieron 14 286,99 mg de CTQ/100g. En la determinación de vitaminas los frutos obtuvieron 46,58 µg de vitamina C, 20,45 µg de vitamina A y 8,35 µg de vitamina E; mientras que las hojas presentaron 1,36 de vitamina C, 0,92 µg de vitamina A, 0,71 µg de vitamina E. Con respecto a los minerales, los frutos obtuvieron 0,67 µg de selenio, 0,12 µg de cobre y 0,23 µg de zinc; mientras que las hojas presentaron 0,08 µg de Selenio, 0,14 µg de cobre, 0,03mcg de zinc. Tanto los frutos como las hojas presentaron una gran actividad antioxidante en sus extractos acuosos y metanólicos. El extracto metanólico del fruto de noni, presentó un IC50 de  $0,239 \pm 0,003$  mg/ml, siendo el de mayor actividad antioxidante que el extracto metanólico de las hojas, que tuvieron  $0,265 \pm 0,008$  mg/mL. El extracto Acuoso del fruto de noni, presentó un IC50 de  $0,586 \pm 0,023$  mg/mL, presentando mayor actividad antioxidante que el extracto acuoso de las hojas, que tuvieron  $0,723 \pm 0,006$  mg/mL.

Morales y Cáceres<sup>11</sup>, realizaron la investigación; efectos de la *Morinda citrifolia* L. (Noni) en los niveles de glucosa sanguínea en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 que asisten al club de diabéticos de un Patronato de la ciudad de Guatemala. Trabajaron con 58 pacientes que asisten al club, diabéticos de ambos sexos, entre 30 a 65 años de edad, que padecen de diabetes tipo 2, y que se encontraban descompensados con niveles de glucosa  $\geq 150$  mg/dL. El resultado obtenido fue que 55 de 58 pacientes son suficientes para decir que el jugo de *M. citrifolia* si reduce significativamente la glucosa en la sangre. Concluyéndose que el jugo de *M. citrifolia* L. actúa como complemento mejorando los niveles de glucosa en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 con tratamiento de hipoglucemia oral en un patronato de la ciudad de Guatemala.

Eldin y col<sup>12</sup>., realizaron el estudio; evidencia de la actividad anticoagulante *in vitro* de cebolla roja (*Allium cepa* L.). Cuyo objetivo fue estudiar los posibles efectos anticoagulantes de la cebolla roja *in vitro*, usando muestras de sangre de individuos normales. Los efectos anticoagulantes *in vitro* de un extracto acuoso (5%) de cebolla roja en diferentes volúmenes (25, 50 y 75 µL) fueron examinados en las muestras de sangre de individuos normales por medición del

tiempo de protrombina (PT). Se descubrió que el extracto acuoso de cebolla roja inhibía el proceso de coagulación *in vitro* y tiempo de protrombina significativamente prolongado de una manera dependiente de la dosis. Concluyendo que el estudio mostró que el extracto acuoso de cebolla roja en diferentes concentraciones inhibe formación de coágulos y aumenta el tiempo de protrombina.

Tognolini y col<sup>13</sup>., realizaron el estudio; efecto protector del aceite esencial de *Foeniculum vulgare* y el anetol en un modelo experimental de trombosis. El anetol evitó la retracción del coágulo inducida por trombina a concentraciones similares al aceite de hinojo. El aceite esencial y el anetol, probados en la aorta de rata con o sin endotelio, mostraron actividad vasorelajante independiente, no comparable a concentraciones de antiplaquetarios que han demostrado estar libres de efectos citotóxicos *in vitro* e *in vivo*, tanto el aceite esencial de *F. vulgare* como el anetol administrados por vía oral en un tratamiento subagudo a ratones (30 mg/kg por día durante 5 días) mostraron una actividad antitrombótica significativa que previene la parálisis inducida por la inyección intravenosa de colágeno más epinefrina (70 % y 83 % de protección, respectivamente). En conclusión, estos resultados demuestran para el aceite esencial de *F. vulgare*, y su principal componente anetol, poseen una actividad antitrombótica segura que aparece debido a su actividad antiplaquetaria de amplio espectro, efecto desestabilizador del coágulo y acción vasorelajante.

Saplontai y col<sup>14</sup>., realizaron el estudio; prueba de actividad antiplaquetaria y antioxidante del extracto de siete variedades de *Allium cepa* L. Como objetivo fue establecer (usando pruebas *in vitro*) el carácter antiplaquetario y antioxidante entre ellos y la acidez del extracto, de siete variedades de *A. cepa*. La variedad blanca de *A. cepa* tiene el pH más alcalino, la mayor cantidad de compuestos de tiosulfonato y el efecto antiplaquetario más potente, pero una cantidad muy pequeña de flavonoides y un efecto antioxidante casi inexistente, en contraste con la variedad roja de *A. cepa* que es lo contrario. Concluyendo la variedad blanca de *A. cepa* tuvo una actividad antiplaquetaria muy alta, lo que sugiere el uso potencial del extracto de *A. cepa* en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares.

Mojtaba y col<sup>15</sup>., realizaron el estudio; comparación de la actividad antiplaquetaria de las tabletas de ajo con la dosis cardioprotectora de aspirina en voluntarios sanos: un ensayo clínico aleatorizado. Teniendo como objetivo encontrar la dosis

antiplaquetaria efectiva de ajo y determinando que la tableta de ajo no tuvo un efecto significativo sobre la agregación plaquetaria a ninguna dosis. Sin embargo, el 30% de los voluntarios en el grupo que usó 3 tabletas de ajo por día informaron efectos adversos (es decir, sangrado). No se observó asociación significativa entre sexo, edad y agregación plaquetaria. Concluyendo en el estudio, no se pudo determinar la dosis efectiva antiagregante plaquetaria de ajo que podría ser igual a la de la actividad antiplaquetaria de aspirina, según el método de estudio utilizado.

## **2.2. *Morinda citrifolia* L. “noni”**

### **2.2.1. Clasificación Taxonómica**

DIVISIÓN : MAGNOLIOPHYTA  
CLASE : MAGNOLIOPSIDA  
SUB CLASE : ASTERIDAE  
ORDEN : RUBIALES  
FAMILIA : RUBIACEAE  
GÉNERO : MORINDA  
ESPECIE : ***Morinda citrifolia* L.**  
N. V. : “noni”

**Fuente:** Constancia emitida por el *Herbarium Huamangensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. (Anexo 1)

### **2.2.2. Descripción botánica**

Es un árbol pequeño, de hasta 4 m de altura, muy ramificado desde la base; la copa es compacta, verdosa y llamativa. La corteza lisa, delgada y verdosa. Presenta hojas opuestas, grandes y lustrosas, las cuales se tornan amarillentas al madurar. Las flores se presentan en cabezuelas y son de color blanco. El fruto es el resultado de la fusión de los ovarios de muchas flores, es de forma irregular, a menudo ovoide y grande (hasta 12 cm. de largo); la pulpa transparente, gelatinosa y de olor muy desagradable. Las semillas son pequeñas y lustrosas, color café-negrusco<sup>16</sup>.

### **2.2.3. Hábitat**

Nativo del sureste de Asia, pero ampliamente plantado en todas las regiones bajas del trópico a nivel mundial<sup>16</sup>.



Se encuentra por todo el inmenso Pacífico, que se extiende desde América del Norte y América del Sur, por una parte, también en Australia y Asia<sup>17</sup>.

#### **2.2.4. Usos en la medicina popular**

La actividad biológica de *Morinda citrifolia* L. ha quedado de manifiesto a través de sus efectos antimicrobiano, anticancerígeno, antioxidante, antiinflamatorio y con efectos sobre la actividad cardiovascular<sup>18</sup>.

#### **2.2.5. Composición química**

Aproximadamente 160 compuestos fitoquímicos se han identificado en la planta de *Morinda citrifolia* L., de los cuales los principales son compuestos fenólicos, ácidos orgánicos y alcaloides. Entre los compuestos fenólicos más importantes están las antraquinonas, acubina, ácido asperulósido y escopoletina; los principales ácidos orgánicos son el caproico y caprílico mientras que el principal alcaloide reportado es la xeronina<sup>18</sup>.

Se han identificado varios componentes principales en la *Morinda citrifolia* L. entre los que se encuentran el ácido octoanoico, potasio, vitamina C, terpenoides, alcaloides, flavonoides, antraquinonas tales como el nordamnacantal, la morindona, la rubiadina, el rubiadina-1-metil éter y el glicósido de antraquinona. Entre sus componentes también se incluyen el beta sitosterol, el caroteno, la vitamina A, ácido linoleico, alizarina, aminoácidos, acubina, L-asperulósido, ácido caproico, ácido caprílico, ácido ursólico, rutina y una posible proxeronina<sup>19</sup>.

##### **a. Flavonoides**

Ellos son muy importantes para el desarrollo y buen funcionamiento de las plantas, ya que actúan como atrayentes de animales en la oviposición, como agentes protectores contra la luz UV o contra la infección por organismos fitopatógenos; además, estos compuestos presentan propiedades benéficas relacionadas con la salud humana, lo cual está basado en su actividad antioxidante<sup>20</sup>.

Químicamente, estas sustancias son de naturaleza fenólica y se caracterizan por poseer dos anillos aromáticos bencénicos unidos por un puente de tres átomos de carbono, con la estructura general C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, los cuales pueden formar o no un tercer anillo<sup>20</sup>.

Las funciones de los flavonoides en las plantas se pueden resumir en tres grupos: papel de defensa, de señal química y efecto sobre las enzimas<sup>20</sup>.

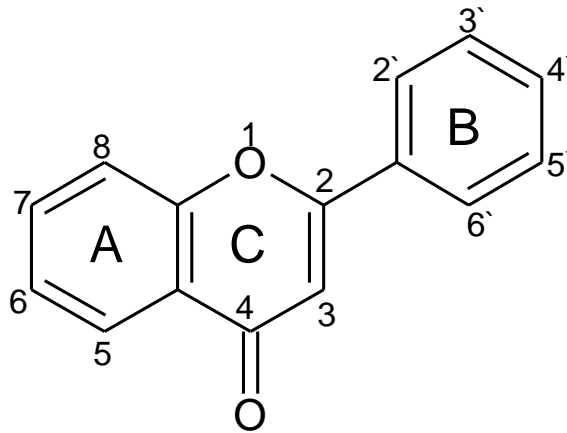


Figura 1. Estructura básica de una flavona<sup>20</sup>.

### b. Taninos

Los taninos son metabolitos polifenólicos ampliamente distribuidos en el reino vegetal. Se localizan en todas las partes de las plantas y su concentración es variable a lo largo del ciclo vegetativo<sup>21</sup>.

Estos compuestos participan en diversas funciones, tales como la asimilación de nutrientes, la síntesis proteica, la actividad enzimática, la fotosíntesis, la formación de componentes estructurales de la planta, la alelopatía y la defensa ante los factores adversos del ambiente<sup>21</sup>.

### c. Compuestos fenólicos

Los fenoles son compuestos químicos que se encuentran ampliamente distribuidos en las frutas, vegetales. Originan una de las clases más importantes de metabolitos secundarios en plantas, en su mayoría derivados de la fenilalanina y en menor cantidad de la tirosina. Estos compuestos constituyen un amplio grupo de sustancias presentes en las plantas con diferentes estructuras químicas y actividades metabólicas. Existen más de 8000 compuestos fenólicos identificados<sup>22</sup>.

## **2.3. Fisiología de la hemostasia**

La hemostasia es el proceso que mantiene la integridad de un sistema circulatorio cerrado y de alta presión después de un daño vascular. El daño de la pared vascular y la extravasación de sangre inician rápidamente los eventos necesarios para la reparación del daño. La hemostasia se divide para su estudio en primaria y secundaria. La hemostasia primaria se caracteriza por el reclutamiento y activación de las plaquetas para formar el tapón plaquetario, mientras que la hemostasia secundaria se caracteriza por la activación del sistema de coagulación con el objetivo de formar fibrina. Finalmente se presenta la cascada de fibrinólisis, encargada de la degradación del coágulo una vez que se ha reparado el daño vascular o tisular<sup>23</sup>.

### **2.3.1. Hemostasia primaria (plaquetaria)**

La formación del tapón hemostático primario depende de la integridad vascular (endotelio y subendotelio) y funcionalidad plaquetaria (alteraciones cuantitativas o cualitativas). Cuando se produce una lesión en un vaso el primer mecanismo para detener la hemorragia es una vasoconstricción local refleja y a continuación la formación del tapón hemostático plaquetario<sup>24</sup>.

#### **2.3.1.1. Adhesión plaquetaria**

Las plaquetas se adhieren a las fibrillas de colágeno del subendotelio vascular mediante receptores de membrana: GpIa y GpIIa (en endotelio) y GpIb/IX (en la membrana plaquetaria) formando un puente con el factor von Willebrand ( $\rho_w$ )<sup>24</sup>.

#### **2.3.1.2. Activación**

La activación plaquetaria depende de la síntesis de tromboxano A<sub>2</sub> y PGI<sub>2</sub> por vía de la ciclooxygenasa<sup>24</sup>.

#### **2.3.1.3. Secreción**

En los gránulos densos  $\delta$  y gránulos  $\alpha$  de las plaquetas existen sustancias que regulan la agregación y la activación de la coagulación: ADP, calcio, serotonina, PDFG (factor de crecimiento obtenido de plaquetas), factor 4 plaquetario<sup>24</sup>.

#### **2.3.1.4. Agregación**

La formación del tapón plaquetario depende fundamentalmente del vWF y de otros factores estimulantes<sup>25</sup>.

### **2.3.2. Hemostasia secundaria (plasmática)**

Casi simultáneamente a la formación del tapón hemostático primario, se pone en marcha el proceso de coagulación dependiente de las proteínas plasmáticas, y que consiste en la formación de fibrina soluble a partir de fibrinógeno plasmático. Clásicamente este conjunto de reacciones y activaciones de proteínas se ha interpretado como una cascada en donde se distinguían dos vías: en vía extrínseca e intrínseca. Actualmente se considera que ambas vías no son independientes en absoluto, ya que la vía extrínseca activa también al fX a través del fXI, considerándola como el inicio fisiológico de la coagulación<sup>24</sup>.

#### **2.3.2.1. Vía extrínseca o del factor tisular**

Es una vía dependiente del factor tisular (tromboplastina) que forma un complejo con el factor VII y el calcio, convirtiendo al fVII en una proteasa activa que actúa sobre el factor X activándolo. El factor tisular es el mejor indicador de la puesta en marcha del proceso coagulativo, al formar un complejo con el fVII, activándolo (fVIIa). Al mismo tiempo el factor tisular hace de cofactor del fVIIa para que actúe sobre IX y X<sup>24</sup>.

#### **2.3.2.2. Vía intrínseca o de sistema de contacto**

El plasma contiene todos los elementos necesarios para la coagulación. En este caso la porción lipídica es el FP3. Los factores de contacto: fXII. Precalicroína, y cininógeno de alto peso molecular, se activan por el contacto con la piel, complejos antígeno/anticuerpo, colágeno. El factor XIIa activa al XI y el XIa al IX, que forma complejo con el factor VIII, el FP3, y el calcio (complejo protrombina) activando finalmente al factor X, el factor XI también es activado por el factor VII (hipótesis alterna del factor tisular)<sup>24</sup>.

#### **2.3.2.3. Vía común**

El factor Xa forma un complejo con el factor V y el calcio que convierte la protrombina en trombina<sup>24</sup>.

#### **2.3.3.4. Fibrogénesis**

El papel fundamental de la trombina es activar al factor XIII para actuar frente al fibrinógeno convirtiéndolo en polímeros estables de fibrina<sup>24</sup>.

### **2.3.3.5. Fibrinólisis**

La lisis del coágulo comienza inmediatamente después de la formación del coágulo. Sus activadores son tanto por parte de la vía extrínseca (factor tisular), como por la vía intrínseca, factor XII, así como otros exógenos: urokinasa, t-PA (activador tisular del plasminógeno). Los inhibidores del proceso de fibrinólisis ayudan a mantener el equilibrio hemostático y evitar los fenómenos trombóticos: Antitrombina, proteína C, proteína S<sup>24</sup>.

La fibrinólisis es un mecanismo esencial para eliminar los coágulos de fibrina durante el proceso de cicatrización, así como remover los coágulos extravasculares para impedir la trombosis. El efector final del sistema es la plasmina, que degrada la fibrina en productos de degradación (PDF y dimero D) la plasmina es producida a partir de un precursor inactivo, el plasminógeno, por acción de dos activadores del plasminógeno: activador tisular (t-PA) y activador tipo uroquinasa (u-PA). La regulación de los activadores tiene lugar por acción de inhibidores (PAI), de los que el más relevante es el PAI-1, mientras que la plasmina circulante es rápidamente inhibida por la  $\alpha$ 2-antiplasmina, lo que evita una fibrinólisis sintética<sup>26</sup>.

La fibrinólisis se inicia por la t-PA liberada desde el endotelio en respuesta a diversos estímulos (trombina, oclusión venosa, ejercicio físico, etc.). Una vez liberado se une a la fibrina donde activa el plasminógeno a plasmina que degrada la fibrina del coágulo. La trombina puede activar otro inhibidor fibrinolítico, el TAFI, el cual elimina residuos de lisina de la fibrina, lo que impide la unión del plasminógeno y ulterior degradación del coágulo<sup>26</sup>.

### **2.4. El trombo**

Los trombos pueden aparecer en cualquier parte del aparato cardiovascular: dentro de las cavidades cardiacas, sobre las valvas valvulares y en arterias, venas o capilares. Su tamaño y forma son variables, dependiendo del lugar de origen y las circunstancias que condujeron a su formación. Los trombos arteriales o cardiacos suelen iniciarse en un foco de lesión endotelial; los trombos venosos ocurren en zonas de estasis<sup>27</sup>.

Todos los trombos tienen como característica común, un área de unión al vaso subyacente o a la pared cardiaca, a menudo más firme en el punto de origen. Se caracterizan por presentar tres partes: una cabeza (adherido a la pared vascular), un cuerpo (en la parte intermedia) y una cola (en el extremo libre,

móvil). El extremo en crecimiento puede no estar bien fijado y, sobre todo en las venas, presenta tendencia a fragmentarse, provocando una embolia<sup>27</sup>.

Tabla 1. Factores de la coagulación<sup>28</sup>.

Factor	Nombre	Forma activa	Características
<b>I</b>	Fibrinógeno	Fibrina	Síntesis hepática. Sensible a la trombina
<b>II</b>	Protrombina	Trombina	Síntesis hepática. Vitamina K dependiente
<b>III</b>	Tromboplastina (factor tisular)	Cofactor	
<b>IV</b>	Calcio		
<b>V</b>	Proacelerina	Cofactor	Síntesis hepática. Sensible a la trombina
<b>VII</b>	Proconvertina	Serinproteasa	Síntesis hepática. Vitamina K dependiente
<b>VII/VIII:C</b>	Factor antihemofílico/ factor von Willebrand	Cofactor	Sensible a la trombina
<b>IX</b>	Factor Christmas	Serinproteasa	Síntesis hepática. Vitamina K dependiente
<b>X</b>	Factor Stuart	Serinproteasa	Síntesis hepática. Vitamina K dependiente
<b>XI</b>		Serinproteasa	Factor de contacto
<b>XII</b>	Factor Hageman	Serinproteasa	Factor de contacto
<b>XIII</b>	Estabilizador de la fibrina	Transglutaminasa	Sensible a la trombina
<b>Precalicroína</b>	Factor Fletcher	Serinproteasa	Factor de contacto
<b>Proteína C</b>		Antifibrinolítico	Vitamina K dependiente
<b>Proteína S</b>	Cofactor de Prot. C	Antifibrinolítico	Vitamina K dependiente

#### 2.4.1. Formación del trombo

En primer lugar, la sangre debe quedar expuesta a una superficie trombogénica (como sucede cuando el endotelio vascular es lesionado), luego la participación de las plaquetas, primero adhiriéndose ellas sobre la superficie lesionada, luego activándose y finalmente agregándose unas con otras, formándose el denominado trombo blanco plaquetario, finalmente el sistema de coagulación, que se activa tanto por la vía intrínseca como por la vía extrínseca, generando la fibrina que se deposita sobre el trombo blanco, transformándolo en un trombo rojo, a base de la cascada de coagulación<sup>28</sup>.

#### 2.4.2. Evolución del trombo

- Disolución – reabsorción: los trombos pueden ser eliminados por la acción fibrinolítica. El vaso vuelve a la normalidad total o parcial.
- Embolización: los trombos pueden desprenderse y llegar a lugares más distales del árbol vascular, ocluyendo luces vasculares de menor calibre.
- Propagación: el trombo puede acumular más plaquetas y fibrina, propagarse y terminar por causar obstrucción de algún vaso e mayor calibre, distante del sitio donde se originó.
- Incorporación a la pared: el trombo es recubierto por una proliferación de células endoteliales. Con el paso del tiempo podrá quedar sólo un engrosamiento fibroso en el lugar de la trombosis.
- Infección: puede causar sepsis, abscesos múltiples, y supuración.
- Endotelización: organización-revascularización-recanalización cuando un trombo persiste “*in situ*” durante unos pocos días, es probable que se organice. Este término se refiere al desarrollo en el interior del trombo del tejido de granulación, tejido celular subendotelial y células mesenquimales<sup>27</sup>.

#### 2.5. Agregación plaquetaria

- **Primera vía.** A través del colágeno y trombina, producto de la injuria vascular, el endotelio dañado expone al subendotelio a la sangre.
- **La segunda vía.** Mediada por el ADP y la serotonina, liberados de los gránulos densos de las plaquetas. En zonas de estenosis o en ramificaciones arteriales se pueden promover lisis de plaquetas, con la consiguiente liberación de ADP, que activa a las plaquetas y promueve su agregación, siempre y cuando estén en presencia de TX A2.
- **La tercera vía.** En la que interviene el ácido araquidónico generando TX A2, poderoso activador plaquetario. La activación plaquetaria por el TX A2 es antagonizado en presencia de un endotelio intacto por la prostaglandina, la cual es sintetizada a nivel endotelial ejerciendo dos funciones: antiagregante plaquetario y vasodilatador<sup>26</sup>.

## **2.6. Fármacos antiagregantes plaquetarios**

### **2.6.1. Inhibidores de la ciclooxigenasa**

Los fármacos que inhiben a la COX-1 evitan la formación de TX A<sub>2</sub>, y comprenden los AINES, destacando entre ellos al ácido acetilsalicílico (aspirina), la sulfinpirazona, el triflunisal, el ditazol y el indobufeno<sup>28</sup>.

#### **2.6.1.1. Aspirina**

La aspirina inhibe irreversiblemente la actividad de la ciclooxigenasa por acetilación del grupo hidroxilo de dicha enzima, por lo tanto, no se puede producir tromboxano A<sub>2</sub>. Una dosis única de 325 mg logra una tasa de inactivación enzimática cercana al 90 %. Las plaquetas al ser anucleadas no tienen la capacidad de reponer la actividad enzimática, por tanto, el efecto de la aspirina se mantiene durante toda la vida de la plaqueta (de 4 a 7 días). Una dosis de 50 mg de aspirina mantiene su efecto inhibidor enzimático hasta 3 días después. La aspirina a mayores dosis puede inhibir a la COX-1 del endotelio vascular evitando la formación de prostaciclina, sin embargo, las células endoteliales a diferencia de las plaquetas, pueden recuperar su función en un corto período de tiempo<sup>28</sup>.

La aspirina inhibe la producción de diacilglicerol plaquetario, de tal forma que puede inhibir la agregación secundaria inducida por la trombina, colágeno o ADP, aunque este efecto es menos duradero y dependiente de dosis. También otro efecto menos importante es que evita la secreción de los gránulos densos plaquetarios. El ácido salicílico, metabolito de la aspirina, tiene cierto efecto fibrinolítico, debido a su interacción con los neutrófilos y monocitos con liberación de enzimas proteolíticas (catepsina G y elastasa)<sup>28</sup>.

#### **2.6.1.2. Sulfinpirazona.**

Estructuralmente está relacionado a la fenilbutazona, pero su actividad antiinflamatoria es mínima. La inhibición de la COX-1 es competitiva, es una inhibición débil y de forma reversible. Su mayor beneficio es sobre superficies protésicas o artificiales más que en superficies biológicas<sup>28</sup>.

#### **2.6.1.3. Triflunisal.**

Es un agente antiplaquetario relacionado estructuralmente a los salicilatos, inhibe irreversiblemente a la COX-1 plaquetaria, y con mínimo efecto sobre la endotelial, de tal forma que la síntesis de la prostaciclina no se altera. Un



segundo mecanismo es que inhibe a la fosfodiesterasa plaquetaria lo que favorece un mayor tiempo de acción del AMPc, el cual es un poderoso mediador que inhibe la agregación plaquetaria<sup>28</sup>.

## **2.6.2. Antagonistas del receptor adenosín difosfato (ADP)**

### **2.6.2.1. Clopidogrel**

Es un antagonista de los receptores de ADP plaquetarios, interfiere con la activación plaquetaria, la degranulación y evita la activación del receptor GP IIb/IIIa. Su acción es similar al de la ticlopidina, pero teniendo una mayor potencia (es 100 veces más potente)<sup>28</sup>.

### **2.6.2.2. Ticlopidina.**

Es una tienopiridina que inhibe selectivamente y de forma irreversible al receptor plaquetario del ADP: P2Y. A dosis habituales comienza su acción a las 24 a 48 horas de su administración, pero tarda entre 5 a 8 días para ejercer un efecto clínico, por ello no debe ser usado cuando se necesita una acción rápida antiagregante. Así mismo su efecto desaparece lentamente, entre 4 a 6 días luego de suspender la medicación ya que se requiere una nueva renovación plaquetaria<sup>28</sup>.

## **2.6.3. Inhibidores de la fosfodiesterasa.**

### **2.6.3. Dipiridamol**

Es un derivado pirimidínico, que actúa inhibiendo a la fosfodiesterasa plaquetaria, la cual degrada al AMPc. Inicialmente se usó como vasodilatador coronario al tener propiedades similares a la papaverina. La presencia del AMPc asegura un efecto antiagregante plaquetario pues desactiva el calcio, facilitando su depósito, al disminuir el calcio en el citosol plaquetario disminuye la activación plaquetaria y hay una menor degranulación de mediadores. Sin embargo, para que exista este efecto antiplaquetario es necesario usar dosis muy superiores a las dosis terapéuticas, por ello el dipiridamol tiene una acción muy débil como antiagregante plaquetario. Su uso se recomienda en pacientes de alto riesgo con prótesis valvular cardíaca o injerto vascular protésico que desarrollan embolismo sistémico a pesar de tomar cumarínicos, la dosis recomendada es de 225 mg/día<sup>28</sup>.

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. Lugar de ejecución**

El presente trabajo de investigación se realizó en los laboratorios de Farmacia de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga durante los meses de mayo a octubre del 2017.

#### **3.2. Población y muestra**

##### **3.2.1. Población**

Frutos de *Morinda citrifolia* L. “noni” que crece en el distrito de Samugari, provincia de La Mar, departamento de Ayacucho, que cumplan con ciertos criterios: los frutos deben estar sin golpes ni raspones, sin presencia de moho, consistente y resistente al tacto.

##### **3.2.2. Muestra**

Se realizó un muestreo por conveniencia, 4 kg de frutos de *Morinda citrifolia* L. “noni” recolectadas del distrito de Samugari. Una parte de la planta recolectada se llevó al *Herbarium Huamangensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga para su respectiva identificación y su clasificación taxonómica.

##### **3.2.3. Unidad experimental**

Se utilizó 40 ratas de cepa Holtzman, hembras de tres meses de edad con un peso entre 200 a 250 g adquiridos del bioterio de la Universidad Peruana Cayetano Heredia. Acondicionándolas con alimento balanceado y agua por dos semanas.

### **3.3. Diseño metodológico para la recolección de datos**

#### **3.3.1. Procedimiento para la recolección de muestra**

Los frutos se recolectaron manualmente en el mes de Junio del 2017, en las horas de la mañana.

#### **3.3.2. Secado, molienda**

La muestra se lavó con agua de grifo, para eliminar todo elemento extraño, luego se procedió a despepar los frutos a temperatura ambiente. Después fueron reducidos de tamaño con una licuadora, las muestras molidas fueron recuperadas de la licuadora.

#### **3.3.3. Preparación del extracto etanólico**

Se pesó 2 kg de pulpa de noni, luego se llevó a maceración en un frasco de color ámbar por una semana en 2 L de etanol al 96°. Se realizó agitación constante para que el solvente se distribuya homogéneamente en todo el extracto. Posteriormente se filtró, luego se realizó una segunda maceración con 1 L de etanol al 96° por una semana, nuevamente se filtró. Por último se realizó una tercera maceración con 1 L de etanol al 96°, finalmente se filtró. Luego se sometió a evaporación en baño maría para evaporar el solvente y se guardó en un frasco de color ámbar hasta el día de su ejecución<sup>29</sup>.

#### **3.3.4. Identificación fitoquímica**

Para determinar el perfil fitoquímico se empleó el método de análisis cualitativo de ensayo a la gota, el cual consiste en someter al extracto vegetal, según la polaridad, a reactivos específicos que generan compuestos coloreados o precipitados, según el tipo de metabolito secundario presente<sup>30</sup>.

Por cada especie vegetal se pesaron cuatro muestras de 5,0 g cada una de material seco y molido, luego, se empaquetaron con papel filtro y colocaron en vasos de 200 mL. Se agregó a cada vaso 30-40 mL de solvente (cloroformo, etanol 96°, agua y HCl 1 %) y se taparon con luna de reloj. Se dejaron en reposo por 24horas<sup>30</sup>.

##### **3.3.4.1. Extracto clorofórmico.**

Esteroides: Ensayo de Liebermann-Burchard. A 5 gotas de extracto, añadir 5 gotas de anhídrido acético y, luego, 2 gotas de ácido sulfúrico concentrado. Una

coloración verde, azul, azul verdoso, violeta o roja, indicó presencia de un núcleo esterooidal o triterpenoidal<sup>30</sup>.

#### **3.3.4.2. Extracto etanólico.**

Flavonoides: Ensayo de Shinoda. A 5 gotas de muestra colocar unos trocitos de magnesio metálico y luego, agregar 3 gotas de ácido clorhídrico concentrado. La coloración rojiza indica la presencia de flavonoides<sup>30</sup>.

Cardiotónicos: Ensayo de Kedde. A 5 gotas de extracto agregar 3 gotas de reactivo de Kedde. La aparición de coloraciones violetas o púrpuras indica la existencia de cardiotónicos<sup>30</sup>.

Taninos: Ensayo de cloruro férrico. A 5 gotas de extracto añadir 2 gotas de solución de  $\text{FeCl}^{+3}$  al 10 %. Una coloración azul indica la presencia de taninos hidrolizables y una coloración verde, de taninos condensados<sup>30</sup>.

#### **3.3.4.3. Extracto acuoso.**

Antocianinas: Ensayo del pH (medio ácido y básico). A 5 gotas de extracto, añadir 3 gotas de HCl concentrado. Observar el color formado. A otras 5 gotas de extracto, añadir 3 gotas de NaOH al 5%. Observar el color formado. Las antocianinas se reconocen por producir diferentes colores a diferentes pH<sup>30</sup>.

Saponinas: Ensayo de la espuma. Colocar 3 mL de la extracto en un tubo de ensayo y agitar vigorosamente por 30 segundos, esperar 15 minutos. La persistencia de espuma indica la presencia de saponinas.

Taninos: Ensayo de cloruro férrico<sup>30</sup>.

#### **3.3.4.4. Extracto Ácido.**

Alcaloides: Ensayos de Dragendorff, Mayer y Wagner. Colocar, en 3 tubos de ensayo, 1 mL de extracto ácido. Añadir, a cada uno, 2 gotas de los reactivos de Dragendorff, Mayer y Wagner. Si se observa turbidez o precipitados (rojo a naranja, blanco a crema y marrón) se considera que la muestra contiene alcaloides<sup>30</sup>.

#### **3.3.5. Evaluación del efecto antiagregante plaquetario**

a. Determinación del tiempo de Protrombina, método propuesto por QUICK. (Anexo 1)

Procedimiento:

- Se obtuvo sangre cuidadosamente por punción cardíaca (evitando estasis o trauma), luego se llevó a un tubo con anticoagulante citrato de sodio 130 mmol/L (3,8 %) en proporción 9:1 (ejemplo: 4,5 mL de sangre +0,5 mL de anticoagulante), mezclar cuidadosamente para después centrifugar y separar el plasma antes de los 30 minutos.
- Posteriormente se llevó el plasma a baño María 37 °C durante 2-3 minutos.
- Seguidamente en un tubo de hemólisis se colocó 0,2 mL del reactivo A (tromboplastina de cerebro de conejo, cloruro de calcio para una concentración final de 0,0125 mol/L y cloruro de sodio para una concentración final de 0,1 mol/L) reconstituido y luego preincubar a 37 °C durante 3 minutos.
- Luego se pipeteó 100 µl del plasma preincubado y se agregó rápidamente al tubo conteniendo 0,2 mL de reactivo A, disparando simultáneamente el cronómetro.
- Se dejó el tubo dentro del baño María, cerca de una fuente de luz. Previo al tiempo estimado de coagulación, sacó el tubo del baño maría, inclinó una o dos veces por segundo, finalmente se detuvo el cronometro en el momento de la aparición del coagulo.
- Finalmente se registró el tiempo de coagulación.

**b. Determinación del tiempo de Tromboplastina Parcial Activada, método propuesto por DACIE. (Anexo 2)**

Procedimiento:

- Se obtuvo sangre cuidadosamente por punción cardíaca (evitando estasis o trauma), luego se colocó en un tubo con anticoagulante citrato de sodio 130 mmol/L (3,8 %) en proporción 9:1 (ejemplo: 4,5 mL de sangre +0,5 mL de anticoagulante). Se mezcló suavemente, centrifugó y separó el plasma antes de los 30 minutos.
- Luego de precalentó el reactivo B (solución de cloruro de calcio estable 0,025 mol/L) antes de realizar la prueba en baño maría a 37 °C.
- Posteriormente en un tubo de hemólisis se colocó 100 µl de plasma más 100 µl del reactivo A (cefalina bovina con ácido ellálgico como activador soluble), se mezcló e incubó por 3 minutos a 37 °C, luego se agregó 100 µl del reactivo B, disparó simultáneamente el cronómetro, luego se agitó

brevemente para homogenizar el contenido, se mantuvo en baño maría unos 25 segundos. Luego se sacó el tubo del baño maría, se inclinó suavemente una vez por segundo y finalmente se detuvo el cronometro en el momento de la formación de coagulo.

- Finalmente se tomó la nota del tiempo de coagulación.

### 3.4. Diseño experimental

El diseño que se empleó, es el diseño de postprueba únicamente y grupo control. Simbólicamente y de forma abreviada corresponde a:

$$\begin{array}{ccc} \mathbf{RG}_n & \mathbf{X}_n & \mathbf{O}_n \\ \mathbf{RG}_c & \text{----} & \mathbf{O}_c \end{array}$$

Donde **RG** corresponde a los grupos experimentales organizados aleatoriamente, **X**, es el estímulo, **O**, es la observación y (----) ausencia de estímulo<sup>31</sup>.

Se administró las diferentes dosis del tratamiento cada 12 horas durante una semana.

El diseño experimental para evaluar el efecto antiagregante plaquetario fue con cinco tratamientos y ocho repeticiones para cada grupo del modo siguiente:

Grupo	Tratamiento	Dosis
Grupo I	SSF	5 mL/Kg
Grupo II	Extracto etanólico	50 mg/kg
Grupo III	Extracto etanólico	100 mg/Kg
Grupo IV	Extracto etanólico	200 mg/kg
Grupo V	Aspirina	100 mg/kg

### 3.5. Análisis estadístico

Los resultados fueron expresados en cuadros y gráficos. Estas fueron sometidas al Análisis de Varianza (ANOVA) con un nivel de significación estadística de 0,05. La diferencia significativa que existe entre los tratamientos fueron evaluados a través de la prueba de Tukey (programa SPSS versión 21).



## **V. RESULTADOS**





**Tabla 2.** Metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de los frutos de *Morinda citrifolia* L. “noni”. Ayacucho 2017

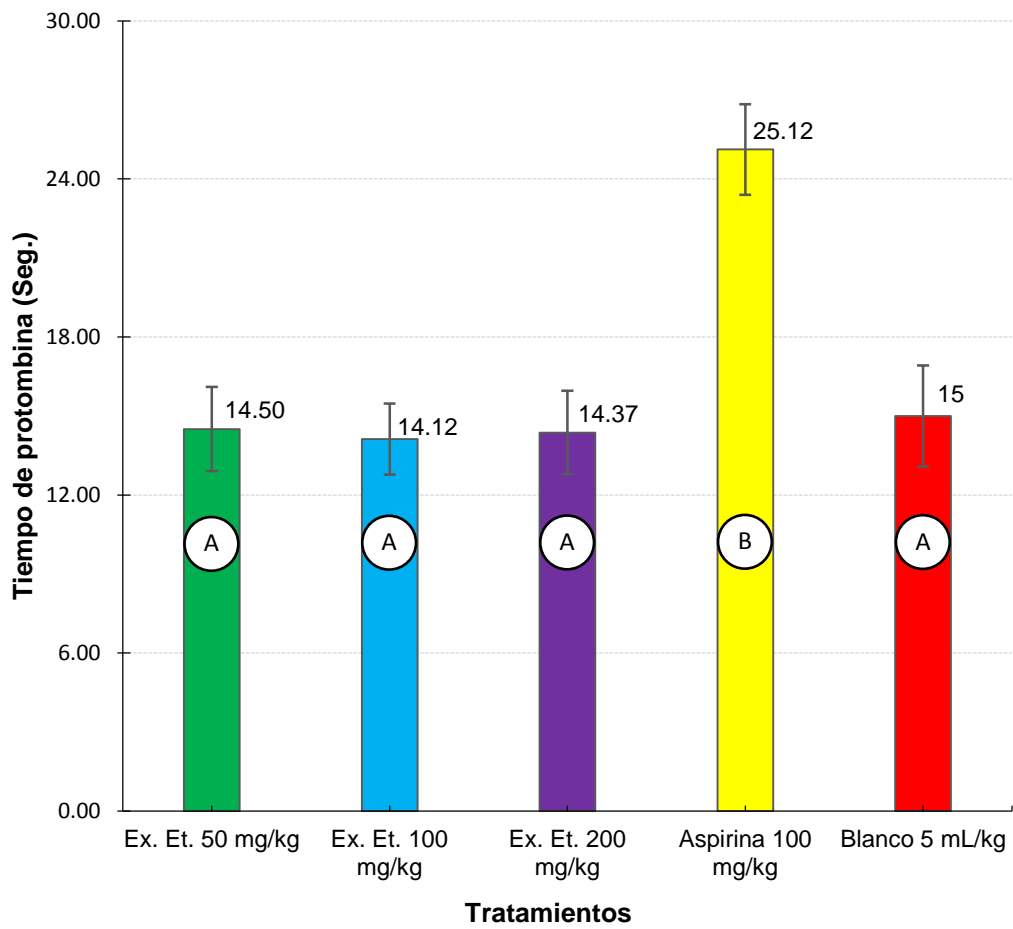
Metabolitos secundarios	Ensayo	Reactivo	Resultados	Observaciones
<b>Taninos y/o fenoles</b>	Tricloruro férrico	Tricloruro férrico	+++	Coloración verde intensa
<b>Flavonoides</b>	Shinoda	Magnesio metálico + ácido clorhídrico	+++	Coloración carmelita intenso
<b>Saponinas</b>	Espuma	Agua destilada	++	Formación de espuma por más de dos minutos
<b>Esteroides</b>	Ensayo Liebermann/Burchard	Anhídrido acético + ácido sulfúrico	+++	Coloración rojo
	Dragendorff	Nitrato de bismuto pentahidratado + ácido nítrico + yoduro de potasio	+	Presencia de opalescencia
<b>Alcaloides</b>	Wagner	Yodo (resublimado) + yoduro de potasio	+	Presencia de opalescencia
	Mayer	Cloruro mercuríco + yoduro de potasio	+	Presencia de opalescencia

**Leyenda:**

Escasa/tenua (+)

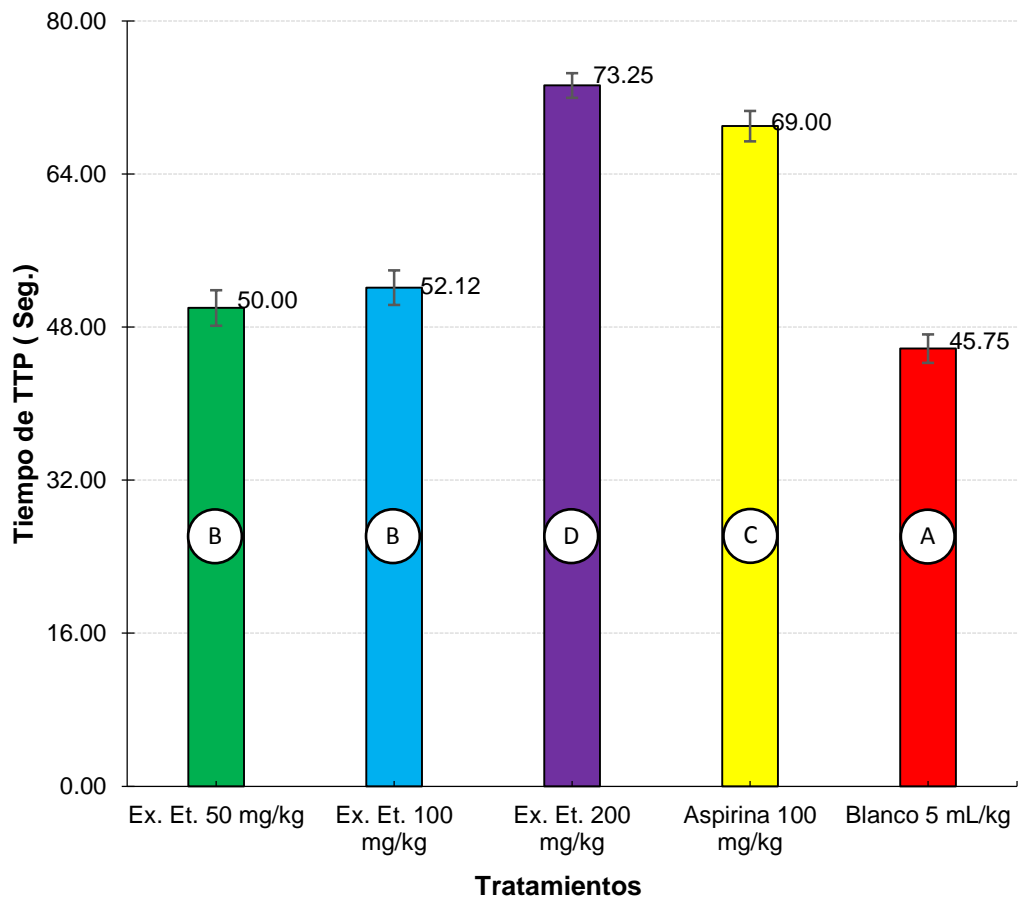
Regular/moderada (++)

Abundante/intensa (+++)



ANOVA:  $p = 7,447 \times 10^{-16}$

**Figura 1.** Tiempo de protombina (TP) para los tratamientos con el extracto etanólico del fruto de *Morinda citrifolia* L. “noni”. Ayacucho 2017



ANOVA:  $p=3,001 \times 10^{-27}$

**Figura 2.** Tiempo de tromboplastina parcial activada (TTP) para los tratamientos con el extracto etanólico del fruto de *Morinda citrifolia* L. “noni”. Ayacucho 2017



## V. DISCUSIÓN

El uso de plantas con fines curativos surge desde tiempos remotos, donde el hombre no contaba con ningún otro recurso efectivo para tratar las enfermedades que le aquejaban, siendo las plantas el único arsenal terapéutico de la época. A partir de entonces y con el paso del tiempo se fue enriqueciendo el conocimiento popular en esta materia<sup>32</sup>.

En sus comienzos, la medicina se desarrolló de manera empírica utilizando principalmente las plantas disponibles en cada parte del mundo y atribuyendo con frecuencia a las mismas un poder sobrenatural, suscitando sus virtudes terapéuticas toda clase de creencias y supersticiones. Igualmente, se fueron conociendo las plantas tóxicas y narcóticas, empleando las primeras para la caza y pesca y las segundas con fines medicinales y placentero<sup>33</sup>.

El desarrollo de las ciencias, especialmente la química, devino en un freno para el uso de las plantas medicinales, ya que éstas comenzaron a ser sustituidas por diversos fármacos obtenidos por síntesis química. Sin embargo, en la actualidad, se ha retomado nuevamente el empleo de medicamentos herbarios, ya que muchos estudios realizados por diversos investigadores han demostrado que las plantas pueden ser tan efectivas como los medicamentos sintéticos, presentando grandes ventajas con respecto a éstos<sup>32</sup>.

A pesar del enorme progreso habido en los últimos años en el desarrollo de nuevos fármacos, la mayoría de ellos siguen presentando efectos secundarios, por lo que la búsqueda de nuevos agentes terapéuticos más eficaces y seguros sigue siendo una parte importante de la investigación farmacéutica. En este sentido, el reino vegetal continúa siendo una fuente interesante de nuevos agentes farmacológicos, ya que existen múltiples plantas medicinales que poseen una gran diversidad de metabolitos secundarios con variadas aplicaciones, de los que hasta el momento sólo han sido investigados una pequeña parte<sup>34</sup>.

La tabla 2 muestra los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de los frutos de *Morinda citrifolia* L. “noni”. Esta nos muestra la presencia de taninos, flavonoides, saponinas, esteroides y alcaloides. Afirmando lo indicado por Rodríguez y col<sup>4</sup>., en su trabajo sobre la determinaron de flavonoides, taninos, saponinas, triterpenos y/o esteroides, aminoácidos libres, carbohidratos reductores, cumarinas, alcaloides en el estudio; Evaluación preclínica del efecto antiinflamatorio del jugo de *Morinda citrifolia* L. Con este estudio se ratifica los metabolitos secundarios encontrados en la presente investigación.

Por otra parte Marvel y Col<sup>35</sup>., en su trabajo presentan resultados de la determinación de los metabolitos del fruto, flor, hoja y raíz del noni, mediante tamizaje fitoquímico. Obteniendo extractos acuosos del fruto que dieron positivos para fenoles, taninos, quinonas, flavonoides, lactonas, alcaloides, aceites esenciales, aminoácidos, triterpenos, glucósidos cardiotónicos y azúcares reductores; en flor dio positivo fenoles y flavonoides, en hoja dieron positivos taninos, flavonoides, lactonas, alcaloides y aceites esenciales y en raíz resultaron positivos fenoles, taninos, quinonas, flavonoides, alcaloides, aceites esenciales, triterpenos y glucósidos cardiotónicos. En la investigación; Metabolitos secundarios del Noni (*Morinda citrifolia*).

Lo que más destaca es la presencia de flavonoides por la coloración carmelita en la fase amílca y la presencia de taninos del tipo pirocatecólicos por la coloración verde intensa.

En el anexo 2 y 3 se muestran las metodologías para la determinación del tiempo de protrombina (PT) y tiempo de tromboplastina parcial activada (TTP).

En la figura 1, muestra el tiempo de protrombina del extracto etanólico de los frutos de *Morinda citrifolia* L. “noni”. Esta nos muestra que la aspirina 100 mg/kg (25,125 seg.) es estadísticamente diferente de las concentraciones de 200; 100 y 50 mg/kg con 14,37; 14,12; 14,5 seg. respectivamente a un  $p=7,447 \times 10^{-16}$ . Por su parte Díaz y col<sup>36</sup>., determinaron el tiempo de protrombina obteniendo en el extracto 50 mg/kg (23,5 seg.), extracto 100 mg/kg (22,6 seg.), estas fueron diferentes a la aspirina 100 mg/kg (21,75 seg.). En el estudio; Efecto antiagregante plaquetario *in vivo* y fibrinolítico *in vitro* del extracto etanólico de las hojas de *Oenothera rosea* Aiton (chupasangre).

Los mecanismos implicados en la posible acción beneficiosa de los flavonoides sobre el riesgo cardiovascular, pueden estar relacionados con sus propiedades

antioxidantes (inhibición de la oxidación de las LDL), con la inhibición de la agregación plaquetaria, con la modulación de la función endotelial y con propiedades antihipertensivas.<sup>37</sup>

Otra de las propiedades que los flavonoides han mostrado es la de inhibir la agregación plaquetaria. Al estudiar el mecanismo de esta acción antitrombótica. Concluyen en su trabajo que debe haber una unión selectiva de la molécula flavónica a la pared de las plaquetas que forman un trombo. Probablemente, desde allí y por sus propiedades neutralizadoras de radicales son capaces de dispersar el trombo y preservar las células endoteliales del daño oxidante, de forma que puedan sintetizar prostaciclina y óxido nítrico normalmente.<sup>38</sup>

Como estándar se utilizó a la aspirina 100 mg, que es un fármaco muy eficaz en estos estudios ya que el ácido acetilsalicílico (AAS) inhibe irreversiblemente la enzima ciclooxygenasa, bloqueando así la síntesis de tromboxano A<sub>2</sub> y la agregación plaquetaria.<sup>39</sup>

La figura 2, muestra el tiempo de tromboplastina parcial activada (TTP) del extracto etanólico de los frutos de *Morinda citrifolia* L. "noni". Esta nos muestra que el extracto 200 mg/kg (73,250 seg.) es estadísticamente diferente de la aspirina 100 mg/kg (69 seg.) y del extracto 100 mg/kg (52,12 seg.) a un  $p=3,001 \times 10^{-27}$ . Por su parte Díaz y col<sup>36</sup>., determinaron el tiempo de coagulación determinado que el extracto 50 mg/kg (397,5 seg.) fue diferente de la aspirina 100 mg/kg (273,75 seg.) y del extracto 100 mg/kg (232,5 seg.). En el estudio; Efecto antiagregante plaquetario *in vivo* y fibrinolítico *in vitro* del extracto etanólico de las hojas de *Oenothera rosea* Aiton (chupasangre).

Las plaquetas tienen una función muy importante en el proceso de coagulación: interaccionando con la red de fibrina, liberan mediadores que aceleran la coagulación, y aumentan la retracción del coágulo sanguíneo. Debido a su papel en la formación de trombos (es necesario la activación y agregación de las plaquetas). Se han descrito diferentes mecanismos por los que los flavonoides inducen la inhibición de la agregación plaquetaria, dependiendo del tipo y estructura del flavonoide: quercetina, fisetina, kaempferol, miricetina, etc., que se encuentran en diferentes fuentes alimentarias.<sup>37</sup>

El posible mecanismo de acción de los flavonoides es inhibiendo la COX1 así como también modificando la concentración de calcio en la plaqueta, cuyo aumento es esencial para que se origine la agregación plaquetaria.<sup>37</sup>



En la presente investigación se realizó el estudio de ANOVA de los grupos de tratamiento, se determinó que existe diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) a un nivel de confianza de 95%, en cuanto a sus medias y varianzas.

Por otra parte Chuquitarqui y Valdivia<sup>40</sup>, nos menciona que el análisis de varianza sirve para comparar si los valores de un conjunto de datos numéricos son significativamente distintos a los valores de otro ó más conjuntos de datos, en el: Estudio fitoquímico preliminar y evaluación del efecto diurético del extracto de *laurus nobilis* "laurel" en animales de experimentación.

El anexo 11 y 14 representan las comparaciones múltiples de los valores de protrombina y tiempo de tromboplastina parcial activada (TTP) en función de los tratamientos del extracto etanólico de los frutos de *Morinda citrifolia* L. "noni". Donde Tukey muestra una clasificación de los tratamientos basado en el grado parecido existente en su media.

Chuquitarqui y Valdivia<sup>40</sup>, nos menciona, que Tukey aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. Muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. En el: "Estudio fitoquímico preliminar y evaluación del efecto diurético del extracto de *laurus nobilis* "laurel" en animales de experimentación".

Las Enfermedades Cardiovasculares son la principal causa de muerte en el mundo. Junto con los esfuerzos en disminuir los factores de riesgo cardiovascular, se recurre a diversos medicamentos para disminuir la morbimortalidad asociada a estas enfermedades, entre otros fármacos se utilizan, antihipertensivos, antidiabéticos, hipolipemiente y antiagregantes plaquetarios. Dada la participación de las plaquetas, tanto en las etapas precoces de la aterogénesis como en la trombosis arterial, el uso de antiagregantes plaquetarios es muy relevante en la prevención primaria y secundaria de las trombosis arteriales.<sup>41</sup>

Los antiagregantes plaquetarios han sido útiles en la prevención de eventos cardiovasculares primarios en la población de alto riesgo y eventos secundarios en individuos que ya han presentado uno o más eventos cardiovasculares trombóticos. Sin embargo, presentan algunos efectos adversos, entre otras hemorragias, hipersensibilidad y trastornos gastrointestinales, y además algún grado de resistencia a su efecto. Dada la frecuencia con las que las ECV se presentan en el mundo desarrollado y en desarrollo, es necesaria la búsqueda de nuevos antiagregantes plaquetarios.<sup>41</sup>

## VI. CONCLUSIONES

1. El extracto etanólico del fruto de *Morinda citrifolia* L. “noni” tiene efecto antiagregante plaquetario *in vivo*.
2. Los metabolitos secundarios presentes en el fruto de *Morinda citrifolia* L. “noni” son los taninos, flavonoides, saponinas, esteroides y alcaloides.
3. El extracto etanólico del fruto de *Morinda citrifolia* L. “noni” a dosis de 200 mg/kg presenta mayor efecto sobre el tiempo de tromboplastina parcial activada respecto a las otras dosis y para el tiempo de protrombina los diferentes tratamientos con el extracto no tienen diferencia significativa.
4. El extracto etanólico del fruto de *Morinda citrifolia* L. “noni” a la dosis de 200 mg/kg (73,25 seg.), presenta mejor tiempo de tromboplastina parcial activada respecto a la aspirina 100 mg/kg (69, seg.).



## VII. RECOMENDACIONES

1. Aislar los metabolitos secundarios presentes en los frutos de *Morinda citrifolia* L. “noni” y así determinar cuál es el metabolito responsable del efecto antiagregante plaquetario.
2. Extender los estudios expuestos en esta tesis para determinar la dosis optima del antiagregante plaquetario.
3. Elaborar formas farmacéuticas a base del fruto de *Morinda citrifolia* L. “noni”.para su estudio como antiagregante plaquetario..
4. Realizar estudios farmacológicos distintos a la actividad antiagregante plaquetaria de *Morinda citrifolia* L. “noni”, puesto que el uso tradicional menciona otras propiedades que son de gran importancia en la actualidad.



## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bardales S., Lozano G. evaluación de la toxicidad del extracto acuoso de hojas de *Tessaria integrifolia* R. et. P. sobre órganos de *Rattus novergicus* var. *Albinus*. Universidad Nacional de Trujillo. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Trujillo, Perú 2018. [Acceso el 11 de Julio del 2019]. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/10272/Bardales%20OChavez%20Sandra%20Fiorella.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
2. Huari E., De la Cruz A. Efecto terapéutico del extracto etanólico de las hojas de *Oenothera rosea* A. “chupasangre”, en forma de crema farmacéutica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Lima, Perú. 2017. [Acceso el 11 de Julio del 2019]. Disponible en: [http://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/01/877266/efecto-terapeutico-del-extracto-etanolico-de-las-hojas-de-oenot\\_sgljlsC.pdf](http://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/01/877266/efecto-terapeutico-del-extracto-etanolico-de-las-hojas-de-oenot_sgljlsC.pdf)
3. Torrez C., Guzmán J., Moore R. Palomo I. Efecto antitrombótico, una característica poco conocida de las frutas y hortalizas. Universidad de Talca. Programa de Investigación en Factores de Riesgo de Enfermedad Cardiovascular (PIFRECV). Talca, Chile. 2008. [Acceso el 11 de Julio del 2019]. Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rchnut/v35n1/art02.pdf>
4. Rodríguez M., Boffill M., Lorenzo G., Sánchez P., López R., Verdecía B., et al. Evaluación preclínica del efecto antiinflamatorio del jugo de *Morinda citrifolia* L. Artículos originales. Instituto Superior de Ciencias Médicas “Dr. Serafín Ruiz de Zárate Ruiz”, Villa Clara. Rev. Cubana Plant. Med. 2005;10(3-4). Febrero 2006. [Acceso el 12 de Julio del 2019]. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v10n3-4/pla023-405.pdf>
5. Bu M., Sánchez N., Pérez H., Lara Gloria., Scull I. Efecto neurofarmacológico del zumo de *Morinda citrifolia*. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas, vol. 10. Núm. 2. Marzo, 2011, pp. 159-166. Universidad de Santiago de Chile. [Acceso el 12 de Julio del 2019]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85617384010>
6. Sánchez N., Bu M., Pérez H., Lara G., Scull I. Efecto del zumo de *Morinda citrifolia* L. (noni) en modelos de analgesia. Revista Cubana de Plantas Medicinales. 2012;17 (3):213-222. [Acceso el 12 de Julio del 2019]. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v17n3/pla02312.pdf>
7. Khoswanto Ch. Mengkudu (*Morinda citrifolia* Linn.) gel affect on post-extraction fibroblast acceleration. Dental Journal. Vol 43. Núm. 1. March 2010. [Acceso el 12 de Julio del 2019]. Disponible en: <https://ejournal.unair.ac.id/MKG/article/view/930/719>
8. Garay Z., Acha O., Souza A., Collantes I. Estudio químico del aceite esencial del fruto de *Morinda citrifolia* Lineo (noni). Rev. Soc. Quím. Perú. 76 (4) 2010. [Acceso el 12 de Julio del 2019]. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v76n4/a07v76n4>
9. Ayanbule F., Li G., Peng I., Nowicki J., Anderson G., Ying M. Anti-jugular vein thrombotic effect of *Morinda citrifolia* L. [noni] in male SD rats. Functional Foods in Health and Disease 2011, 1(9):297-309. [Acceso el 13 de Julio del 2019]. Disponible en <https://ffhdj.com/index.php/ffhd/article/view/122>

10. Villacorta G., Pérez A. Actividad Antioxidante “*in Vitro*” de las Hojas y Frutos de *Morinda citrifolia* Linn. Mediante el método de secuestro de radicales libres 1,1-difenil-2- picrilhidrazilo (DPPH). Universidad Nacional de la Amazonía Peruana. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Iquitos, Perú. 2011. [Acceso el 13 de Julio del 2019]. Disponible en: [http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/3672/Giuliano\\_Tesis\\_Titulo\\_2011.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/3672/Giuliano_Tesis_Titulo_2011.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
11. Morales C., Cáceres A. Efecto de la *Morinda citrifolia* L. (noni) en los niveles de la glucosa sanguínea en pacientes con Diabetes mellitus tipo 2 que asisten al club de diabéticos de un patronato de la ciudad de Guatemala. Universidad Rafael Landívar. Marzo, 2011. [Acceso el 13 de Julio del 2019]. Disponible en: [https://issuu.com/nutrinetguat/docs/tesis\\_grad](https://issuu.com/nutrinetguat/docs/tesis_grad)
12. Eldin T., Abdalmutalab M., Izzaldeen H., Abdalkareem M., Abdalrheem M., Alhassan M. Evidence for an *in vitro* Anticoagulant Activity of Red Onion (*Allium cepa* L.). Sudan JMS Vol. 6, No.2. Jun 2011. [Acceso el 13 de Julio del 2019]. Disponible en: <https://www.ajol.info/index.php/sjms/article/view/72459/61378>
13. Tognolini M., Ballabeni V., Bertoni S., Bruni R., Impicciatore M., Barocelli E. Protective effect of Foeniculum vulgare essential oil and anethole in an experimental model of thrombosis. Pharmacological Research. Elsevier. Volume 56, Issue 3, September 2007. Pages 254-260. [Acceso el 13 de Julio del 2019]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1043661807001296?via%3Dihub>
14. Saplotai A., Mot A., Moldavan M., Oprean R., Silaghi R., Orasan O., *et al.* Testing antiplatelet and antioxidant activity of the extract of seven varieties of *Allium cepa* L. Open Life Sci. 2015; 10: 89–98. [Acceso el 14 de Julio del 2019]. Disponible en: <https://www.degruyter.com/downloadpdf/j/biol.2015.10.issue-1/biol-2015-0011/biol-2015-0011.pdf>
15. Mojtaba Sh., Pouya F., Javad K., Soha N. Comparison of antiplatelet activity of garlic tablets with cardio-protective dose of aspirin in healthy volunteers: a randomized clinical trial. Avicenna J. Phytomed. 2016 Sep-Oct; 6(5): 550–557. [Acceso el 14 de Julio del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5052418/>
16. Rojas F. Árboles que curan: noni. Solución tecnológica. Kurú: Revista Forestal (Costa Rica) 4(10), 2007. [Acceso el 14 de Julio del 2019]. Disponible en: <https://www.google.com.pe/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=2ahUKEwj6u4jrnPnjAhXDzVkkHQBODQsQFjAAegQIAxAC&url=https%3A%2F%2Fdialnet.unirioja.es%2Fdescarga%2Farticulo%2F5123266.pdf&usg=AOvVaw0jYFQ7IQ1gJuvOeyEOgk9O>
17. Quispe M., Timaná P. Efecto antihelmíntico *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Morinda citrifolia* L. (noni) contra el *Ascaris lumbricoide* humano. Universidad Inca Garcilaso de la Vega. Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica. Lima, Perú. 2018. [Acceso el 14 de Julio del 2019]. Disponible en: [https://www.google.com.pe/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=10&ved=2ahUKEwj2j7a5n\\_njAhWmuVkkHQzbdJwQFjAJegQICRAC&url=http%3](https://www.google.com.pe/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=10&ved=2ahUKEwj2j7a5n_njAhWmuVkkHQzbdJwQFjAJegQICRAC&url=http%3)

A%2F%2F repositorio.uigv.edu.pe%2Fbitstream%2Fhandle%2F20.500.11818%2F3514%2F008599\_Tesis%2520QUISPE%2520HUAROCC%2520MARI%2520TIMANA%2520RAMOS%2520PEDRO.pdf%3Fsequence%3D3%26isAllowed%3Dy&usg=AOvVaw1-2UDDy3vM7tTBvb0yRFTX

18. Armando J., Rosas P., Ramírez J., Ulloa B. El noni: propiedades, usos y aplicaciones potenciales. Revista Fuente. Año 4 N° 10. Enero-Marzo 2012. [Acceso el 15 de Julio del 2019]. Disponible en: <http://fuente.uan.edu.mx/publicaciones/04-10/5.pdf>
19. Torrez A., Toranzo A. Antecedentes y estado actual de investigaciones sobre la utilidad médica de la *Morinda Citrifolia* (Noni Tahitiano). Trabajo de revisión Departamento de Estomatología Infantil. Universidad Médica Mariana Grajales Coello. Holguín, Cuba. Enero, 2010. [Acceso el 15 de Julio del 2019]. Disponible en: <http://www.cocmed.sld.cu/no134/pdf/no134rev1.pdf>
20. Cartaya O., Reynaldo I. Flavonoides: Características químicas y aplicaciones. Cultivos Tropicales. Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal. 2001, 22(2). [Acceso el 15 de Julio del 2019]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193215009001>
21. Kasay M., Huamán J., Guerrero M. Estudio cualitativo y cuantitativo de taninos de la *Oenothera rosea* L'Hér. Ex aiton. Rev. Per. Quím. Ing. Quím. Vol. 16. N°. 1. 2013. Pág. 13-19. [Acceso el 16 de Julio del 2019]. Disponible en: <https://www.google.com.pe/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=16&ved=2ahUKEwjkbjodfeAhUCLqwKHXM5DjAQFjAPegQIARAC&url=http%3A%2F%2Frevistasinvestigacion.unmsm.edu.pe%2Findex.php%2Fquim%2Farticle%2Fdownload%2F6540%2F5807&usg=AOvVaw256VGyl3s1pkgcWn-BwyhB>
22. Porras A., López A. Importancia de los grupos fenólicos en los alimentos. Temas selectos de Ingeniería de Alimentos. 2009: 121-134. México 2009. [Acceso el 16 de Julio del 2019]. Disponible en: [http://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSA-3\(1\)-Porras-Loaiza-et-al-2009.pdf](http://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSA-3(1)-Porras-Loaiza-et-al-2009.pdf)
23. Flores O. Ramírez K., Meza J. Nava J. Fisiología de la coagulación. Revista Mexicana de Anestesiología. Vol. 37. Supl. 2 Octubre-Diciembre 2014. [Acceso el 16 de Julio del 2019]. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/rma/cma-2014/cmas142c.pdf>
24. Marco L., Rosell A., Rafecas J. Hemostasia y trastornos hemorrágicos. Hospital Universitario Dr. Peset. Valencia. Abril. 2002. [Acceso el 17 de Julio del 2019]. Disponible en: <http://www.medynet.com/usuarios/jraguilar/Manual%20de%20urgencias%20y%20Emergencias/purpura.pdf>
25. Jiménez V. Elaboración de cuatro productos naturales a partir de noni (*Morinda citrifolia* L.). Costa Rica: Universidad EARTH. 2008. 4-10 p. [Acceso el 17 de Julio del 2019]. Disponible en: <https://es.scribd.com/document/234584504/Noni>
26. Paramo J, Panizo E, Pegenaute R, Lacumberri R. Coagulación 2009: una visión moderna de la hemostasia. Revista de medicina 53(1):19-23. 2009. [Acceso el 17 de Julio del 2019]. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3663930>



27. Villalba E., Vildoza O. Trastornos hemodinámicos II: hiperemia, congestión, hemorragia y hemostasia. *Revistas bolivianas. Rev. Act. Clin. Med* v.43 La Paz, mayo 2014. [Acceso el 17 de Julio del 2019]. Disponible en: [http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2304-37682014000400008&lng=es&nrm=iso](http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2304-37682014000400008&lng=es&nrm=iso)
28. Ruiz E. Antiagregantes plaquetarios. *Rev. Per. Card.* 2006. [acceso 17 de abril del 2017]. 32(1):29-38. Disponible en: [http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/cardiologia/v32\\_n1/pdf/a03.pdf](http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/cardiologia/v32_n1/pdf/a03.pdf)
29. Carrillo P. Comprobación del efecto hipoglucemiante del zumo del fruto de noni (*Morinda citrifolia*), en ratas (*Rattus norvegicus*) con hiperglucemia inducida. Repositorio institucional de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Ecuador. Febrero 2012. [Acceso el 19 de Julio del 2019]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/1591>
30. Pérez F., León G., Rodríguez F., Vásquez L. Estudio fitoquímico preliminar de plantas medicinales del norte del Perú. *Pueblo Continente.* 2016; 22(2), 421-426. 2011. [Acceso el 19 de Julio del 2019]. Disponible en: <https://docplayer.es/74468500-Estudio-fitoquimico-preliminar-de-plantas-medicinales-del-norte-del-peru.html>
31. Hernández S., Fernández C., Baptista L. metodología de la investigación. Cuarta edición. México DF. McGraw-Hill interamericana, 2006.
32. Felipe A., García G., Scull R., Herrera Y., Fernández Y. Efecto diurético de los extractos acuosos y secos de *Caesalpinia bahamensis* Lam (brasilete) en ratas Wistar. *Rev. Colombiana cienc. Anim.* 3(2).2011. Universidad de la Habana. Noviembre.2011. [Acceso el 19 de Julio del 2019]. Disponible en: <https://www.google.com.pe/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=6&ved=0ahUKEwid5YrT2qvbAhWjuFkKHcCbD2QQFghJMAU&url=https%3A%2F%2Fdialnet.unirioja.es%2Fdescarga%2Farticulo%2F3817366.pdf&usq=AOvVaw1X53SgwAyJpCdOsRaNTNkl>
33. Tarek F. Estudio de la actividad sobre el sistema nervioso central de especies vegetales procedentes de la flora egipcia. Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Farmacia. Madrid. 2013. [Acceso el 20 de Julio del 2019]. Disponible en: <https://eprints.ucm.es/21219/1/T34422.pdf>
34. Bonkanka C. Evolución farmacológica de terpenos y flavonoides de origen vegetal. Universidad de la Laguna. Ciencias y tecnologías/28. [Acceso el 20 de Julio del 2019]. Disponible en: <ftp://tesis.bbtK.ull.es/ccppytec/cp282.pdf>
35. Chavira G. Metabolitos secundarios del Noni (*Morinda citrifolia*). Instituciones de educación superior. La labor investigadora e innovadora en México. Tomo I. Edición 2018. Science Associated Editors. ISBN-13: 978-1-944162-27-6. [Acceso el 20 de Julio del 2019]. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/329625754\\_Capitulo\\_6\\_Metabolitos\\_secundarios\\_del\\_Noni\\_Morinda\\_citrifolia](https://www.researchgate.net/publication/329625754_Capitulo_6_Metabolitos_secundarios_del_Noni_Morinda_citrifolia)
36. Díaz H., Fuertes C., Whu D., Jurado B., Roque M., Arroyo J. Efecto antiagregante plaquetario *in vivo* y fibrinolítico *in vitro* del extracto etanólico de las hojas de *Oenothera rosea* aiton (chupasangre). *Rev. Soc. Quím. Perú.* 77 (3) 2011. Lima, Perú. 2011. [Acceso el 21 de Julio del 2019]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=371937623008>
37. Da L., Aller L. Papel de los flavonoides del té en la protección cardiovascular. *An. Med. Interna (Madrid).* Vol. 25, Nº 3, 2008. [Acceso el 21

de Julio del 2019]. Disponible en:  
<http://scielo.isciii.es/pdf/ami/v25n3/editorial.pdf>


38. Álvarez E., Orrallo F. Actividad biológica de los flavonoides (II). Acción cardiovascular y sanguínea. Universidad Santiago de Chile. Vol. 22. Núm. 11. Diciembre 2003. [Acceso el 22 de Julio del 2019]. Disponible en:  
<https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-actividad-biologica-los-flavonoides-ii--13055925>
39. Lázaro E., Rodríguez L., Antiagregación plaquetaria. Boletín farmacoterapéutico de Castilla la Mancha. Vol. IV. Nº 2. 2003. [Acceso el 22 de Julio del 2019]. Disponible en:  
[https://sescam.castillalamancha.es/sites/sescam.castillalamancha.es/files/documentos/farmacia/iv\\_2\\_antiagregantes.pdf](https://sescam.castillalamancha.es/sites/sescam.castillalamancha.es/files/documentos/farmacia/iv_2_antiagregantes.pdf)
40. Chuquitarqui L., Valdivia F. Estudio fitoquímico preliminar y evaluación del efecto diurético del extracto de *laurus nobilis* "laurel" en animales de experimentación. Universidad Católica de Santa María. Arequipa, Perú. [Acceso el 22 de Julio del 2019]. Disponible en:  
<https://core.ac.uk/download/pdf/54220541.pdf>
41. Palomo I., Torrez C., Moore R., Alarcón M., Maragaño P. Antiagregantes plaquetarios: mecanismos de acción y riesgos asociados al uso. Universidad de Antioquía, Medellín. Colombia. Volumen 16. Número 1. 2009. [Acceso el 23 de Julio del 2019]. Disponible en:  
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=169815393015>



## **ANEXOS**



## Anexo 1.



EL JEFE DEL HERBARIUM HUAMANGENSIS DE LA FACULTAD  
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE  
"SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA"

C E R T I F I C A

Que, el Bachiller en Farmacia y Bioquímica, **Sr. Alex Edison, LA ROSA MENDOZA**, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

Dicha muestra ha sido estudiada y determinada según el Sistema de Clasificación de Cronquist. A. 1988. y es como sigue:

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	ASTERIDAE
ORDEN	:	RUBIALES
FAMILIA	:	RUBIACEAE
GENERO	:	Morinda
ESPECIE	:	<b><i>Morinda citrifolia</i> L.</b>
N.V.	:	"noni"

Se expide la certificación correspondiente a solicitud del interesado para los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 5 de Junio del 2017

UNIVERSIDAD NACIONAL DE  
SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
HERBARIUM HUAMANGENSIS

*Lga. Laura Agustina Medina*  
JEFE

Certificado de descripción taxonómica de *Morinda citrifolia* L. "noni". Ayacucho, 2017

## Anexo 2.

### PLASMASCANN® TROMBOPLASTINA CÁLCICA (ISI 1,40 - 1,60) Para diagnóstico "in vitro"



#### PRINCIPIO

El tiempo de protrombina o tiempo de Quick es el tiempo, en segundos, necesario para la coagulación de un plasma una vez recalcificado al que se ha añadido un factor de coagulación externo (Tromboplastina). Tiempos largos respecto a los valores obtenidos en sujetos sanos, indican deficiencias en los factores de coagulación.

#### UTILIDAD DIAGNÓSTICA

Plasmascann® es una tromboplastina cálcica liofilizada, que permite determinar variaciones en los factores de coagulación, especialmente factores VII y X, deprimidos en el tratamiento con derivados cumarínicos, deficiencia de vitamina K, hepatopatías o por alguna anomalía hereditaria en el sistema de coagulación. El reactivo, obtenido a partir de un extracto de cerebro de conejo, se estandariza lote a lote mediante la técnica de Hills-Ingram.

Una única prueba de laboratorio no permite establecer un diagnóstico. Los resultados se han de evaluar en el contexto de todos los datos clínicos y de laboratorio obtenidos.

#### REACTIVOS

Kit 10 x 2 ml (Ref. 99 70/14). Contiene:  
A. 10 viales de tromboplastina cálcica.

Ref. 99 70 30

Kit 10 x 4 ml (Ref. 99 62 21). Contiene:  
A. 10 viales de tromboplastina cálcica.

Ref. 99 70 40

Opcionalmente, 1 x 500 ml citrato trisódico trihidratado al 3,8% (Ref. 99 59 59).  
Listo para su uso.

#### PREPARACIÓN DEL REACTIVO DE TRABAJO

El vial debe reconstruirse con el volumen de agua desionizada indicado en la etiqueta, agitar suavemente y esperar 10 min. para la homogenización completa.

#### COMPOSICIÓN DEL REACTIVO DE TRABAJO

Tromboplastina con la actividad suficiente para promover la coagulación del plasma en las condiciones del ensayo.  
CaCl<sub>2</sub> 0,015 M.  
Estabilizantes y conservantes.

#### CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

El reactivo sin rehidratar es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, almacenado a 2-8°C. El reactivo reconstruido es estable una semana en las mismas condiciones de temperatura. No usar el reactivo después de la fecha indicada. No congelar.  
Indicaciones de alteración de lo reactivo:  
Presencia de partículas en el reactivo, después de su preparación. Resultados obtenidos con el control de calidad fuera del rango de aceptación.

#### MATERIAL NECESARIO NO SUMINISTRADO

Material común de laboratorio.  
Coagulómetro o baño termostaticado a 37°C; cronómetro.

#### MUESTRA

Para la obtención del plasma mezclar cuidadosamente 9 partes de sangre recién extraída con 1 parte de solución al 3,8 % (0,13 M) de citrato trisódico trihidratado (Ref. 99 59 59). Centrifugar a 3.000 rpm/5 min y separar el sobrenadante.  
Mantener la muestra a 2-8°C hasta el momento del ensayo. No demorar la prueba más de 2-3 h. desde la extracción.

#### PRECAUCIONES

Las indicaciones de seguridad se encuentran en la etiqueta de los productos. Se aconseja consultar la ficha de datos de seguridad antes de la manipulación del reactivo.  
Los plasmas control y el plasma del paciente deben manipularse con precaución.  
La eliminación de residuos debe hacerse según la normativa legal vigente.

#### PROCEDIMIENTO

1. Rehidratar un vial de Plasmascann®, agitar suavemente y esperar 10 min. para la homogenización completa.
2. Incubar el reactivo a 37°C / 10-15 min.
3. Dispensar 0,1 ml. de plasma en tubo de hemólisis e incubar a 37°C / 2,5 min.
4. Añadir 0,2 ml de Plasmascann® atemperado a 37°C.
5. Poner en marcha un cronómetro y determinar el tiempo de formación del coágulo (tiempo de Quick).

#### Curva de calibración

Utilizar un "pool" de plasmas citratados, procedentes de no menos de 5 individuos varones sanos (18-40 años).

Dilución	--	1/2	1/3	1/4	1/10
Plasma Citratado (ml)	1	1	1	1	1
Sol. 0,9% NaCl (ml)	--	1	2	3	9
% Coagulación	100%	50%	33%	25%	10%

Los tiempos de coagulación obtenidos con las anteriores diluciones se representan frente a la inversa de la dilución. En la recta obtenida se interpolan los resultados de los pacientes para convertir tiempos de coagulación en % de actividad.

#### RESULTADOS

Pueden expresarse en seg., en % de actividad o en INR.  
Para determinar los porcentajes de actividad de las muestras, los valores en segundos se interpolan en la tabla adjunta o en la curva de calibración del reactivo.

#### Nota

Para los sistemas de detección automática se deberá tener en cuenta el manual de instrucciones del aparato.

#### CÁLCULOS

##### Cálculo de INR

La utilización del Cociente Normalizado Internacional, INR, proporciona una escala estandarizada para la expresión de los resultados del tiempo de coagulación de pacientes bajo terapia anticoagulante oral, lo que permite su mayor control.

Dicho cociente INR sería el obtenido con el plasma problema en cuestión, si se hubiera utilizado como reactivo la Tromboplastina Internacional de referencia de la OMS.  
Para obtener estos resultados se utiliza el Índice de Sensibilidad Internacional ISI, que nos relaciona los cocientes de los tiempos de protrombina obtenidos con una tromboplastina cualquiera con los obtenidos con la tromboplastina de referencia según la expresión:

$$\text{INR} = \text{R}^{\text{ISI}}$$

R: tiempo de protrombina del paciente dividido por el tiempo de protrombina medio de plasmas normales. ISI: pendiente de la recta de calibración, en una gráfica doble logarítmica, obtenida al representar en ordenadas los tiempos de protrombina de la preparación internacional de referencia y en abscisas los tiempos de protrombina obtenidos con la tromboplastina usada.

El ISI del Plasmascann® se ha obtenido según el protocolo de calibración recomendado por la OMS, tal y como se expone en el folleto de la Oficina Comunitaria de Referencia (Community Bureau of Reference - BCR).

Plasmascann® tiene un ISI entre 1,40 - 1,60. El valor real de cada lote está indicado en la etiqueta del vial.

##### Resultados

Se determina, para cada uno de los plasmas en estudio, el valor de R, una vez conocidos el tiempo de protrombina de los problemas y el tiempo de protrombina medio para plasmas normales.

$$R = \frac{\text{Tiempo paciente (seg.)}}{\text{Tiempo normal medio (seg.)}}$$

Se aconseja que cada laboratorio determine su tiempo de protrombina normal, en función de la técnica de determinación usada. Los valores orientativos de tiempos normales con Plasmascann® están entre 10,5 y 15 seg.

Con los valores R obtenidos y conociendo el ISI del lote de Plasmascann® empleado, se interpola el valor de INR en la tabla adjunta.

Por ejemplo: R = 2,5 y ISI = 1,50, se obtiene un INR = 3,95

Se puede hacer el cálculo directamente aplicando la expresión:

$$\text{INR} = \text{R}^{\text{ISI}}$$

o lo que es lo mismo,

$$\log \text{INR} = \text{ISI} \times \log R$$

En el ejemplo anterior:  $\log \text{INR} = 1,50 \times \log 2,5$ . Haciendo operaciones y obteniendo el antilogaritmo se llega al valor de INR indicado en la tabla.

##### VALORES DE REFERENCIA

Valores para plasmas normales, expresados en % de actividad: 80 - 100 %.  
El intervalo terapéutico con anticoagulantes orales es del orden del 20 - 35 %.  
Es aconsejable que cada laboratorio establezca sus propios márgenes, en función de la metodología usada.

##### PRESTACIONES. CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

Las prestaciones analíticas varían según la metodología utilizada; se aconseja su determinación para cada sistema en particular. Los resultados siguientes se han obtenido con un coagulómetro mecánico.

##### Sensibilidad al Factor VII:

% Factor VII	100%	60%	50%	40%	30%	20%	10%
Tiempo de coagulación seg.	12,2	12,4	13	13,7	14,3	15,8	19,4

Precisión en la serie, como CV%: 4,5%  
Precisión entre series, como CV%: 5,5%  
Veracidad. Los resultados obtenidos con el reactivo no presentan diferencias significativas al compararlo con el reactivo considerado de referencia.

Los datos detallados del estudio de las prestaciones del reactivo están disponibles bajo demanda.

##### INTERFERENCIAS

Trazas de detergente o restos de sangre en el material de vidrio pueden dar lugar a errores en la determinación.  
Una temperatura de reacción incorrecta, proporciones inadecuadas de citrato en el plasma o la utilización de muestras envejecidas pueden dar lugar a valores erróneos.  
No utilizar los plasmas de la VSG.

Si la punción venosa resulta laboriosa, existe el riesgo de aspirar tromboplastina tisular.

##### CONTROL DE CALIDAD

Es recomendable la inclusión de plasmas control, en cada proceso de medida para verificar los resultados. Juego de controles Ref. 99 25 50. Contiene:

1 x 1 ml Control de Coagulación. Nivel Bajo

1 x 1 ml Control de Coagulación. Nivel Alto

"Pool" de plasmas humanos con niveles conocidos de factores de coagulación.

Se aconseja que cada laboratorio establezca su propio programa de control de calidad y los procedimientos de corrección de las desviaciones en las medidas.

##### BIBLIOGRAFÍA


- Sultan, C., Prolet, G., Beuzart, Y., Rosa, R., Jossa, F. (1979). Técnicas en hematología, 1a. Ed. 186-188.  
Hills, M., Ingram, I.C. (1973). Brit. J. Hematol., 25, 445-451  
Heckermann, H.J. (1979). Thromb. Res., 15, 769-780  
Procedure for the handling and processing of blood specimens. H18-A3, NCCLS, 24(39), 2004  
One-Stage Prothrombin Time Test and Activated Partial Thromboplastin Time Test, H47-A2, CLSI, 28(20), 2008.  
WHO Expert Committee on biological standardization; Thirty-third report. WHO Technical report series 667. Geneva (1983) 87-107  
van der Besselar, A.M.H.P. The certification of the second reference material for rabbit thromboplastin. CRM 1491. Commission of the European Communities, BCR Information, Report EUR 11665 (1988).  
Loeliger, E.A., ICSH/ICHTH. Recommendations for Reporting Prothrombin Time in Oral Anticoagulant Control. Thromb. Haemostas. (1985), 53, 155 - 156.  
Kirkwood, T.B.C. Calibration of reference thromboplastins and standardization of the prothrombin time ratio. Thromb. Haemostas. (1983), 49, 238 - 244.

QUÍMICA CLÍNICA APLICADA S.A.  
Empresa Certificada ISO 9001 / ISO 13485  
A7 Km 1081 - P.O. Box 20 - E43870 AMPOSTA / SPAIN  
Tel. ++34 (977) 70.62.30 Fax ++34 (977) 70.30.40



Inserto del reactivo PLASMASCANN (Tromboplastina cálcica). Ayacucho, 2017

## Anexo 3



# APTTTest

Para la determinación del Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada

---

**SIGNIFICACION CLINICA**  
El tiempo de tromboplastina parcial activada (APTT), es una prueba sensible a la deficiencia de factores procoagulantes del plasma así como a la presencia de ciertos inhibidores de la coagulación.  
Sirve para detectar anomalías en la vía intrínseca de la coagulación, como son los factores necesarios para la formación del activador intrínseco de la protrombina, o sea los factores VIII, IX, XI y XII.  
También detecta deficiencias severas de los factores II, V, X y fibrinógeno, no siendo así con los trastornos plaquetarios, las deficiencias de los factores VII y XIII ni los problemas vasculares.  
La rapidez, sencillez y reproducibilidad de la prueba la hacen muy adecuada para el control de la terapéutica anticoagulante por heparina. También permite la identificación rápida de hemofílicos en potencia, a fin de poder someterlos a tratamientos preventivos prequirúrgicos y evitar problemas hemorrágicos.

**FUNDAMENTOS DEL METODO**  
El ensayo se basa en la medida del tiempo que tarda en coagular un plasma descalcificado, colocado en un baño a 37°C y en presencia de un exceso de cefalina, activador y calcio.

**REACTIVOS PROVISTOS**  
**A. Reactivo A:** viales conteniendo cefalina con tierra de diatomeas como activador particulado.  
**B. Reactivo B:** solución de cloruro de calcio 0.025 mol/L.

**REACTIVOS NO PROVISTOS**  
Agua bidestilada o desionizada.

**INSTRUCCIONES PARA SU USO**  
**Reactivo A, preparación:**  
- Abrir un vial quitando el precinto metálico y retirando lentamente el tapón de goma para evitar pérdidas del material.  
- Agregar el volumen de agua bidestilada o desionizada indicado en el envase.  
- Verificar que la temperatura del agua empleada no sea mayor a 37°C.  
- Tapar y agitar suavemente hasta obtener una suspensión homogénea. Volver a homogeneizar cada vez que se emplee.  
**Reactivo B:** listo para usar.

**PRECAUCIONES**  
Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos. Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

**ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO**  
**Reactivos Provistos:** estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.  
**Reactivo A:** una vez reconstruido es estable durante 14 días en refrigerador o 30 días congelado (-20°C). El congelado y descongelado sólo puede realizarse una vez. Por esto se recomienda dividirlo en porciones, de acuerdo a las necesidades de trabajo.

**MUESTRA**  
Plasma  
a) **Recolección:** obtener sangre cuidadosamente (evitando estasis o trauma) y colocar en un tubo con anticoagulante en proporción 9 + 1 exacta (ejemplo: 4.5 ml de sangre + 0.5 ml de Anticoagulante TP de Wiener lab). Mezclar suavemente. Centrifugar y separar el plasma antes de los 30 minutos. Es recomendable efectuar la extracción con jeringas plásticas.  
b) **Aditivos:** para obtener el plasma debe emplearse Anticoagulante TP de Wiener lab, o citrato de sodio 130 mmol/L (3.8%) o 109 mmol/L (3.2%).  
c) **Sustancias interferentes conocidas:**  
- Las contaminaciones, visibles o no, son causa de tiempos falsamente prolongados.  
- No debe emplearse EDTA o heparina para obtener plasma. Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.  
d) **Estabilidad e instrucciones de almacenamiento:** el plasma debe mantenerse en refrigerador (2-10°C) hasta el momento de efectuar la prueba.  
Este período no debe prolongarse más de 4 horas. En caso de no poder procesarse en este lapso, el plasma debe congelarse a -20°C. Este procedimiento al igual que el descongelado debe realizarse con rapidez sumergiendo en baño a 37°C previo a la determinación.  
La muestra debe conservarse hasta el momento de su análisis en tubos plásticos para minimizar los efectos de activación por contacto que pueden ocurrir con los tubos de vidrio.

**MATERIAL REQUERIDO (no provisto)**  
- Tubos de hemólisis.  
- Pipetas y micropipetas para medir los volúmenes indicados.  
- Baño de agua a 37°C.

- Cronómetro.  
- Fuente luminosa, para la observación del coágulo.

**PROCEDIMIENTO**  
Precalentar el Reactivo B antes de realizar la prueba en baño de agua a 37°C.  
En un tubo de hemólisis colocar:

Muestra (plasma desconocido o control)	100 ul
Reactivo A (homogeneizado)	100 ul
Mezclar e incubar 3 minutos a 37°C, luego agregar:	
Reactivo B (a 37°C)	100 ul

Disparar simultáneamente un cronómetro. Agitar brevemente para homogeneizar el contenido, mantener en el baño unos 25 segundos. Luego sacar el tubo del baño, inclinar suavemente una vez por segundo y detener el cronómetro en el momento de la formación del coágulo. Tomar nota del tiempo de coagulación.

**INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS**  
Los resultados pueden expresarse de distinta forma:  
1) Como tiempo de tromboplastina parcial activada en segundos.  
2) Como relación entre el tiempo obtenido con el desconocido y el de un plasma control.

**METODO DE CONTROL DE CALIDAD**  
Plasma Control normal - patológico de Wiener lab.

**VALORES DE REFERENCIA**  
El intervalo de valores observados en individuos normales oscila entre 33-48 segundos.  
Se considera fuera de lo normal valores que difieren en más de 6 segundos de un plasma control.  
Es recomendable que cada laboratorio procese un plasma control con cada lote de reactivos empleado y que correlacione los valores obtenidos para los pacientes con el de dicho plasma, haciendo constar estos resultados en el informe.

**CURVA DE CALIBRACION**  
Este método es útil como control de la respuesta a la heparina en pacientes tratados con este anticoagulante.  
La técnica empleada es la siguiente:  
1) Preparar una Solución de Trabajo de heparina en solución fisiológica cuya concentración sea 10 Unidades/ml. Debe emplearse la misma heparina que se suministra al paciente.  
2) Preparar diluciones de esta Solución de Trabajo utilizando un pool de plasmas frescos normales o Plasma Control normal como diluyente. Se deberán obtener diluciones de 0.8; 0.6; 0.4; 0.2; y 0.1 Unidades/ml.  
3) Determinar el tiempo de tromboplastina parcial para cada una de estas soluciones así como para el pool de plasmas y graficar en papel semilogarítmico APTT vs. concentración de heparina.  
El valor obtenido para el paciente debe correlacionarse con

los valores de la gráfica, para obtener la concentración actual de heparina circulante.

**LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO**  
Ver Sustancias interferentes conocidas y Estabilidad e instrucciones de almacenamiento en MUESTRA.  
El mecanismo de la coagulación involucra una serie de reacciones enzimáticas que pueden ser influenciadas por toda condición que afecte a los sistemas enzimáticos en general, razón por la cual se deben observar las mismas precauciones metodológicas.  
Debe tenerse en cuenta que variaciones en la relación anticoagulante:muestra o en la concentración de citrato utilizada afectan los tiempos de tromboplastina parcial activada, por lo que se recomienda controlar la dosis de anticoagulante empleada al tomar la muestra.

**PERFORMANCE**  
**Reproducibilidad:** procesando replicados de las mismas muestras en un mismo día se obtuvieron los siguientes resultados:

Nivel	D.S	C.V
45 seg	± 1.1 seg	2.5 %
62 seg	± 1.8 seg	3.0 %

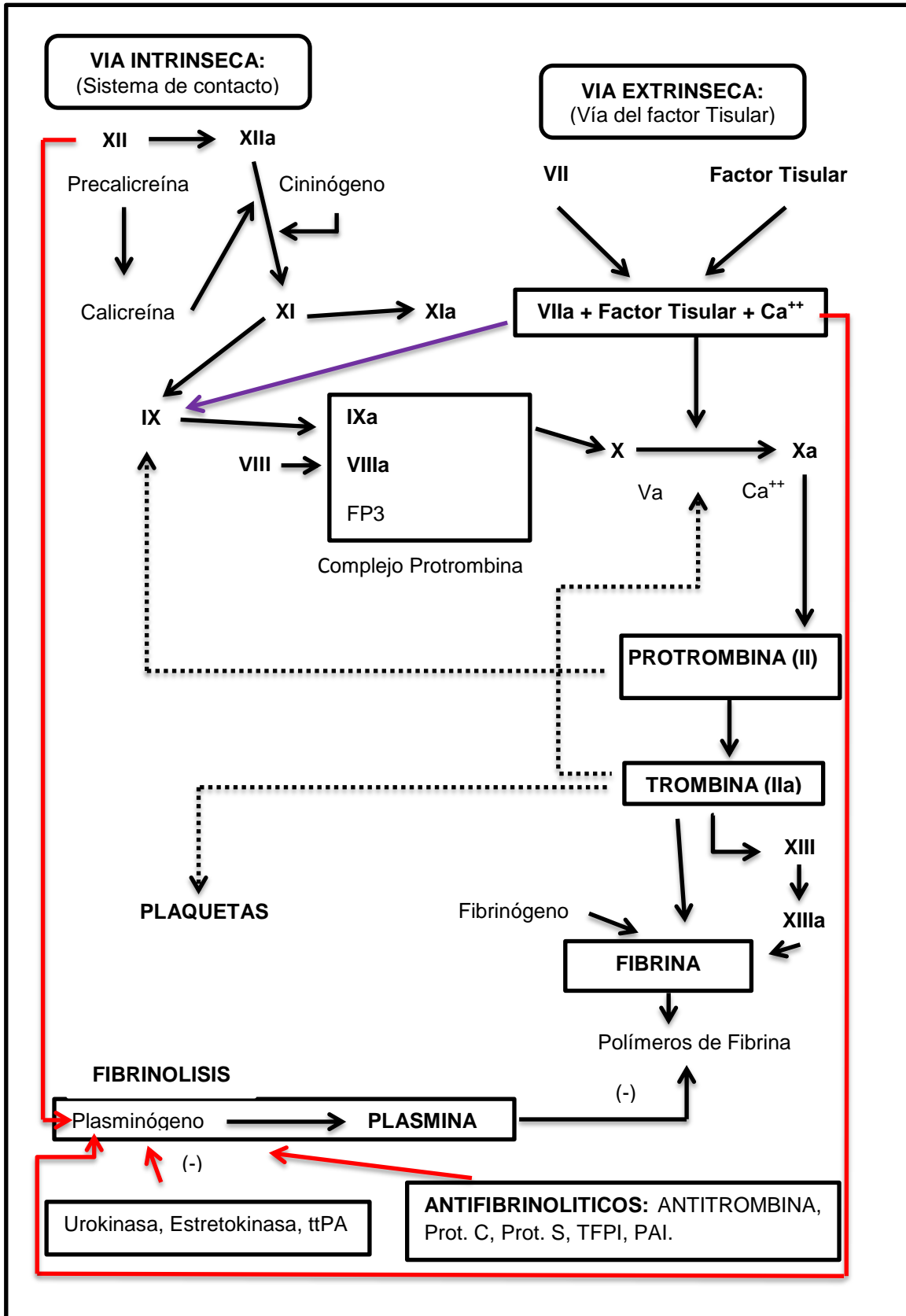
**PRESENTACION**  
- 150 determinaciones (6 x 2.5 ml) (Cód. 1705002).

**BIBLIOGRAFIA**  
- Bell, W.N., Alton, H.G. - Nature 174, 880 (1954).  
- Dacie, J.B., Lewis, S.M. - Hematología Práctica - Ediciones Toray, 2ª Edición (1970).  
- Wintrobe, M.M. - Hematología Clínica 3ª Edición Intermedica (1969).  
- Briggs, I., Rodríguez Pácora, S., Lorenzo, L., Capriotti, G.  
- "Evaluación de un nuevo Reactivo de Tiempo Parcial de Tromboplastina Activada" - 53º Triduo Bioquímico Científico Anual, Bahía Blanca (1989).  
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACCPress, 4ª ed., 2001.

Inserto del reactivo APTTTest (Tromboplastina parcial activada). Ayacucho, 2017



Anexo 4



Fases de la coagulación<sup>24</sup>. Ayacucho, 2017

**Anexo 5.**



Frutos de *Morinda citrifolia* L. "noni". Ayacucho, 2017

## Anexo 6.



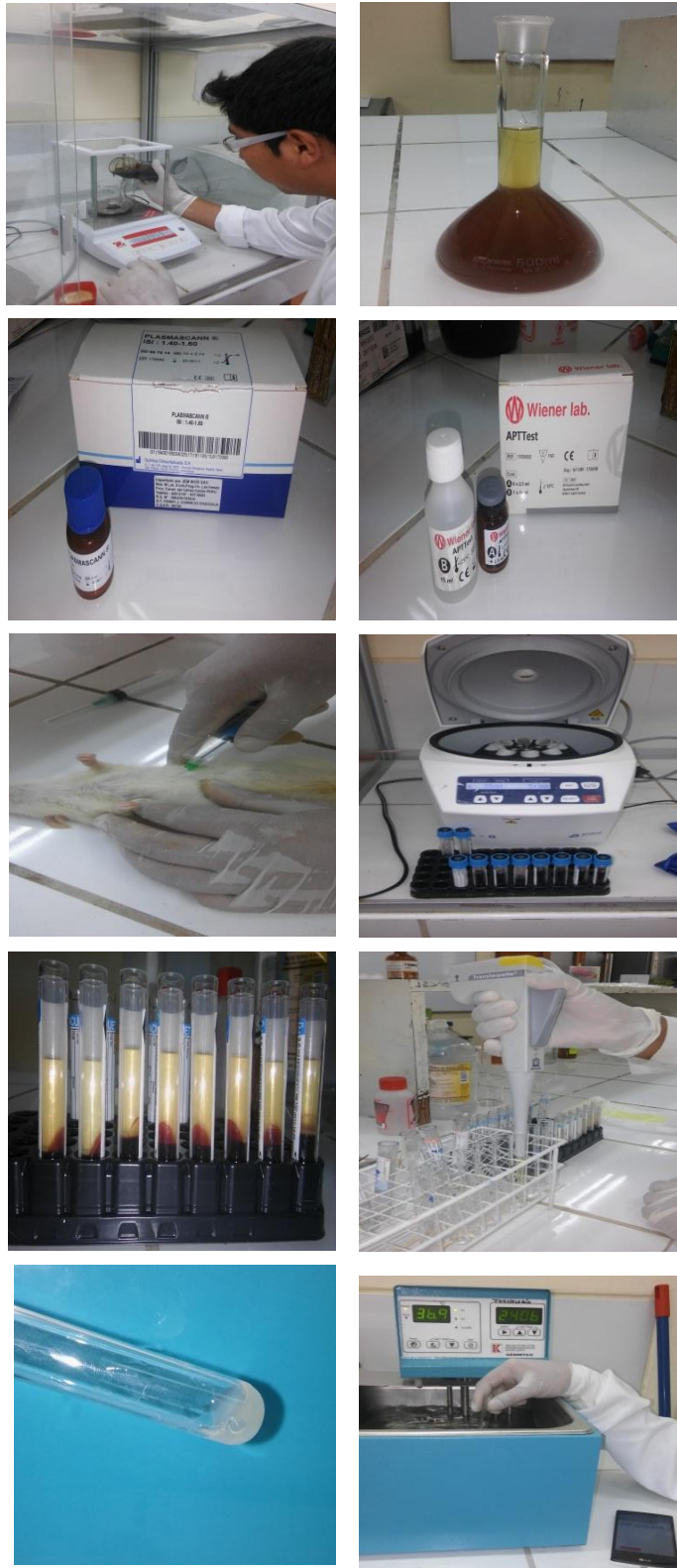
Procedimientos de la obtención del extracto etanólico de los frutos de *Morinda citrifolia* L. "noni". Ayacucho, 2017

## Anexo 7.



Identificación fitoquímica del extracto etanólico de los frutos de *Morinda citrifolia* L. "noni". Ayacucho, 2017

## Anexo 8.



Procedimiento para determinar el efecto antiagregante plaquetario *in vivo* del extracto etanólico de los frutos de *Morinda citrifolia* L. “noni”. Ayacucho, 2017

**Anexo 9.** Prueba de comparaciones múltiples del tiempo de protrombina del extracto etanólico de los frutos de *Morinda citrifolia* L. “noni”. Ayacucho, 2017

(I) Muestra	(J) Muestra	Diferencia significativa (I-J)	Error	Sig.	Intervalo de confianza 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Blanco	Aspirina 100 mg/kg	-10,1250*	0,826	0,000	-12,501	-7,748
	Extracto 50 mg/kg	0,500	0,826	0,973	-1,8761	2,876
	Extracto 100 mg/kg	0,875	0,826	0,826	-1,501	3,251
	Extracto 200 mg/kg	0,625	0,826	0,941	-1,751	3,001
Aspirina 100 mg/kg	Blanco	10,125*	0,826	0,000	7,748	12,501
	Extracto 50 mg/kg	10,625*	0,826	0,000	8,248	13,001
	Extracto 100 mg/kg	11,000*	0,826	0,000	8,623	13,376
	Extracto 200 mg/kg	10,750*	0,826	0,000	8,373	13,126
Extracto 50 mg/kg	Blanco	-0,500	0,826	0,973	-2,876	1,876
	Aspirina 100 mg/kg	-10,625*	0,826	0,000	-13,001	-8,248
	Extracto 100 mg/kg	0,375	0,826	0,991	-2,001	2,751
	Extracto 200 mg/kg	0,125	0,826	1,000	-2,251	2,501
Extracto 100 mg/kg	Blanco	-0,875	0,826	0,826	-3,251	1,501
	Aspirina 100 mg/kg	-11,000*	0,826	0,000	-13,376	-8,623
	Extracto 50 mg/kg	-0,375	0,826	0,991	-2,751	2,001
	Extracto 200 mg/kg	-0,250	0,826	0,998	-2,626	2,126
Extracto 200 mg/kg	Blanco	-0,625	0,826	,941	-3,0011	1,751
	Aspirina 100 mg/kg	-10,750*	0,826	,000	-13,126	-8,373
	Extracto 50 mg/kg	-0,125	0,826	1,000	-2,501	2,251
	Aspirina 100 mg/kg	0,250	0,826	0,998	-2,126	2,626

\*La diferencia media es significativa al nivel de 0,05.

**Anexo 10.** Análisis de varianza del tiempo de protrombina del extracto etanólico de los frutos de *Morinda citrifolia* L. “noni”. Ayacucho, 2017

	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>GI</b>	<b>Media cuadrática</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
Entre grupos	725,750	4	181,438	66,408	7,447 x10 <sup>-16</sup>
Dentro de grupos	95,625	35	2,732		
Total	821,375	39			

**Anexo 11.** Prueba de Tukey del tiempo de protrombina del extracto etanólico de los frutos de *Morinda citrifolia* L. “noni”. Ayacucho, 2017

Muestra	N	Subconjuntos homogéneos (0,05)	
		A	B
Extracto 100 mg/kg	8	14,125	
Extracto 200 mg/kg	8	14,375	
Extracto 50 mg/kg	8	14,500	
Blanco	8	15,000	
Aspirina 100 mg/kg	8		25,125
Sig.		0,826	1,00



**Anexo 12.** Prueba de comparaciones múltiples del tiempo de tromboplastina parcial activada del extracto etanólico de los frutos de *Morinda citrifolia* L. “noni”.

Ayacucho, 2017

(I) Muestra	(J) Muestra	Diferencia significativa (I-J)	Error	Sig.	Intervalo de confianza 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Blanco	Aspirina 100 mg/kg	-23,250*	0,955	0,000	-25,997	-20,502
	Extracto 50 mg/kg	-4,250*	0,955	0,001	-6,997	-1,502
	Extracto 100 mg/kg	-6,375*	0,955	0,000	-9,122	-3,627
	Extracto 200 mg/kg	-27,500*	0,955	0,000	-30,247	-24,752
Aspirina 100 mg/kg	Blanco	23,250*	0,955	0,000	20,502	25,997
	Extracto 50 mg/kg	19,000*	0,955	0,000	16,252	21,747
	Extracto 100 mg/kg	16,875*	0,955	0,000	14,127	19,622
	Extracto 200 mg/kg	-4,250*	0,955	0,001	-6,997	-1,502
Extracto 50 mg/kg	Blanco	4,250*	0,955	0,001	1,502	6,997
	Aspirina 100 mg/kg	-19,000*	0,955	0,000	-21,747	-16,252
	Extracto 100 mg/kg	-2,125	0,955	0,195	-4,872	0,622
	Extracto 200 mg/kg	-23,250*	0,955	0,000	-25,997	-20,502
Extracto 100 mg/kg	Blanco	6,375*	0,955	0,000	3,627	9,122
	Aspirina 100 mg/kg	-16,875*	0,955	0,000	-19,622	-14,127
	Extracto 50 mg/kg	2,125	0,955	0,195	-0,622	4,872
	Extracto 200 mg/kg	-21,125*	0,955	0,000	-23,872	-18,377
Extracto 200 mg/kg	Blanco	27,500*	0,955	0,000	24,752	30,247
	Aspirina 100 mg/kg	4,250*	0,955	0,001	1,502	6,997
	Extracto 50 mg/kg	23,250*	0,955	0,000	20,502	25,997
	Extracto 100 mg/kg	21,125*	0,955	0,000	18,377	23,872

\*La diferencia media es significativa al nivel de 0,05.

**Anexo 13.** Análisis de varianza del tiempo de tromboplastina parcial activada del extracto etanólico de los frutos de *Morinda citrifolia* L. “noni”. Ayacucho, 2017

	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Gl</b>	<b>Media cuadrática</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
Entre grupos	4817,100	4	1204,275	329,616	3,001x10 <sup>-27</sup>
Dentro de grupos	127,875	35	3,654		
Total	4944,975	39			

**Anexo 14.** Prueba de Tukey del tiempo de tromboplastina parcial activada del extracto etanólico de los frutos de *Morinda citrifolia* L. “noni”. Ayacucho, 2017

Muestra	N	Subconjuntos homogéneos (0,05)			
		A	B	C	D
Blanco	8	45,750			
Extracto 50 mg/Kg	8		50,000		
Extracto 100 mg/Kg	8		52,125		
Aspirina 100 mg/Kg	8			69,000	
Extracto 200 mg/Kg	8				73,250
Sig.		1,000	0,195	1,000	1,000

## Anexo 15

### Matriz de consistencia

TITULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	MARCO TEÓRICO	METODOLOGÍA
<p>Efecto antiagregante plaquetario <i>in vivo</i> del extracto etanólico del fruto de <i>Morinda citrifolia</i> L. "noni". Ayacucho 2017</p>	<p>¿Tendrá efecto antiagregante plaquetario <i>in vivo</i> el extracto etanólico del fruto de <i>Morinda citrifolia</i> L. "noni"?</p>	<p><b>General:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Determinar el efecto antiagregante plaquetario <i>in vivo</i> del extracto etanólico del fruto de <i>Morinda citrifolia</i> L. "noni".</li> </ul> <p><b>Objetivos específicos:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico del fruto de <i>Morinda citrifolia</i> L. "noni".</li> <li>Determinar el tiempo de protrombina (TP) y tiempo de tromboplastina parcial activada (TTP) del extracto etanólico del fruto de <i>Morinda citrifolia</i> L. "noni".</li> <li>Comparar el efecto antiagregante plaquetario del extracto etanólico del fruto de <i>Morinda citrifolia</i> L. "noni" con la aspirina.</li> </ul>	<p>El extracto etanólico del fruto de <i>Morinda citrifolia</i> L. "noni" tiene efecto antiagregante plaquetario <i>in vivo</i>.</p>	<p><b>Variable Independiente:</b> Extracto etanólico del fruto de <i>Morinda citrifolia</i> L. "noni".</p> <p><b>Indicadores:</b> Extracto etanólico 50 mg/kg. Extracto etanólico 100 mg/kg. Extracto etanólico 200 mg/kg.</p> <p><b>Variable Dependiente:</b> Efecto antiagregante plaquetario.</p> <p><b>Indicador:</b> Tiempo de protrombina (Seg.). Tiempo de Tromboplastina parcial activada (Seg.).</p>	<p>Bu y col., realizaron el estudio; Efecto neurofarmacológico de zumo de <i>Morinda citrifolia</i>. Sánchez y col., realizaron el estudio; Efecto del zumo de <i>Morinda citrifolia</i> L. "noni" en modelos de analgesia. Khoswanto, realizó el estudio; Noni (<i>Morinda citrifolia</i> Linn.) Gel afecta en la aceleración de fibroblastos post-extracción. Garay y Col., realizaron el estudio; Estudio químico del aceite esencial del fruto de <i>Morinda citrifolia</i> Lineo (noni).</p>	<p><b>Nivel de investigación</b> Básica-Experimental</p> <p><b>Población:</b> Especie de <i>Morinda citrifolia</i> L. "noni" que crece en el distrito de Palma Pampa, provincia de La Mar, departamento de Ayacucho.</p> <p><b>Muestra:</b> 2 kg de frutos de <i>Morinda citrifolia</i> L "noni" recolectadas del distrito de Palma Pampa. Una parte de la planta recolectada se llevó al <i>Herbarium Huamangensis</i> para su respectiva identificación y su clasificación taxonómica.</p> <p><b>Unidad experimental</b> 40 ratas albinas de cepa <i>Holfzman</i>, con 200-250 g de peso.</p> <p><b>Metodología</b> Este estudio fue realizado conforme al método descrito por Quick (protrombina) y Dacie (Tromboplastina parcial activada).</p> <p><b>Diseño experimental</b> Serán divididos de manera aleatoria en cinco grupos cada uno con ocho repeticiones.</p> <p><b>Análisis estadístico</b> Los resultados fueron expresados en cuadros y gráficos. Estas fueron sometidas al Análisis de Varianza (ANOVA) con un nivel de significación estadística de 0,05. La diferencia significativa que existe entre los tratamientos fueron evaluados a través de la prueba de Tukey (programa SPSS versión 21).</p>