*Hemerocallis fulva* (*Ilustración de 1885 realizada por Otto Wilhel Thome)*

# *ACCION FARMACOLÓGICA DE EXTRACTOS Y PRINCIPIOS ACTIVOS DEL GÉNERO HEMEROCALLIS*

## *THE PHARMACOLOGICAL POTENTIAL OF MOLECULES FROM PLANTS OF THE GENUS HEMEROCALLIS*

*TRABAJO DE FIN DE GRADO*

ARIADNA BRITO MESA

Tutor: Dra. María Josefina Rodríguez Enríquez

Grado en Farmacia. Marzo 2020

# ÍNDICE

1. Resumen …….. 2
2. Introducción …… 3
3. Objetivos …… 4
4. Metodología …… 4
5. Resultados ..…….. 5
5.1 Clasificación taxonómica, generalidades y morfología ……...…. 5
5.2 Compuestos identificados……..……..…7
5.3 Actividades farmacológicas descritas para extractos y compuestos aislados de diversas partes de las plantas en las especies de Hemerocallis mejor estudiadas…… 11
5.3.1 De los extractos y compuestos aislados de flores y hojas …….. 11
5.3.1.1Acción antidepresiva y antiinflamatoria …….. 11
5.3.1.2Acción antioxidante ……..…….. 16
5.3.1.3Acción hipoglucemiante ….……. 19
5.3.1.4Acción hipnótica ….……...…... 20
5.3.1.5 Acción lipolítica ……...…. 23
5.3.2 De los extractos y compuestos aislados de raíces …….…. 24
5.3.2.1Acción antitumoral ...……..……...……. 24
5.3.2.2Acción antiparasitaria ……..……..…….. 26
6. Discusión ……..……..……..…….. 27
7. Conclusiones …….……. 28
8. Bibliografía …….……. 30

# 1. RESUMEN

El género *Hemerocallis* es originario de Asia donde las plantas de algunas de sus especies han sido utilizadas en la alimentación y en la medicina tradicional. Estudios recientes están revelando la gran variedad de acciones farmacológicas que poseen tanto sus extractos como los metabolitos aislados de sus flores, partes aéreas y sus raíces lo que justifica el creciente interés de la Industria Farmacéutica por las plantas de este género.

Hemos querido poner en evidencia la importancia de este género como fuente de nuevos metabolitos secundarios y el interés potencial de los mismos para la elaboración o el diseño de medicamentos más eficaces para tratamiento de algunas de las enfermedades más preocupantes en nuestro siglo. Datos recientes han mostrado que algunos de los compuestos sintetizados por estas plantas como la rutina, la hesperidina o las kwanzoquinonas podrían ser los responsables de las actividades antidepresiva, antioxidante, hipoglucemiante, hipnótica, lipolítica, antitumoral y antiparasitaria y explicarían el porqué de uso desde hace milenios por la medicina china.

# ABSTRACT

Plants of the genus *Hemerocallis* are native to Asia where some species of this genus are been used in food and traditional medicine. Recent studies have reveal the wide variety of pharmacological properties associated with extracts and isolated metabolites obtained from the flowers, aerial parts and roots of these plants. This is one reason for the growth in the pharmaceutical industry's interest in *Hemerocallis*.

We wanted to highlight the importance of this genus as a new source of secondary metabolites. Such molecules might have the potential to provide compounds that could lead to the development of new medicines to treat diseases for which a pressing need exists for more effective therapies. Recent data have show that some of the compounds synthesized by *Hemerocallis*

plants such as rutin, hesperidin or kwanzoquinone provide a range of beneficial medicinal effects. For example, some of these molecules have antidepressant or, antioxidant or, anticancer or, antiparasitic properties. This might explain why plant extracts containing such compounds have been used for millennia Chinese medicine.

**KEY WORDS:** *Hemerocallis spp,* extracts, phytochemicals, root, flower, stems, leaves, pharmacological activity.

## 2. INTRODUCCIÓN

El género Hemerocallis está constituido por veintiséis especies silvestres originarias de Asia[1]. Son plantas herbáceas, con hojas largas y lineales que surgen de un rizoma perenne y carnoso cuyas flores maduras solo duran 24h[2]. Etimológicamente su nombre proviene del griego “hemero”, que significa para un día y de “callis” “belleza diurna”[3]. Las primeras referencias que existen del daylily, conocida en China como Hsuan Ts'ao según su tradición oral, se remontarían al año 2697 a.C pero el primer registro aparece en los escritos de Confucio entre 551-479 a.C.[4]

En Europa los *Hemerocallis* fueron introducidos alrededor del 300 a.C.[4]. A principios del siglo XX, gracias al trabajo de hibridación y mejora realizado por Stout[5], el género llega a ser muy popular como ornamental en América y en el resto del mundo. Hoy en día según los datos de la American Daylily Society (*www.daylilies.org*) y de la Sociedad Internacional Europea Daylily (*www.hemerocallis-europa.eu*), existirían más de 80.000 variedades hibridas.

Durante siglos estas plantas han sido empleadas como alimento o remedio tradicional en China y países del Sudeste asiático para tratar numerosas dolencias. Es el caso de las hojas de *Hemerocallis spp* empleadas en el tratamiento de la inflamación y la ictericia[13], de las flores de *H. citrina*[8] y *H.fulva,* utilizadas como antidepresivo, denominándolas “olvido de la tristeza”[8] o de las as raíces de *H. fulva* usadas como antiparasitario frente a la esquistosomiasis[10] y como antianémico[13].

Estos usos tradicionales, así como los trabajos más recientes centrados en la extracción, identificación y acción farmacológica de los compuestos responsables de su actividad, hacen del género *Hemerocallis* un excelente candidato a la hora de buscar nuevas moléculas activas más eficaces para el tratamiento de enfermedades con cuya curación se han relacionado, como la depresión, el insomnio, la obesidad o el cáncer.

## 3. OBJETIVO

El objetivo particular de este trabajo ha sido el de recopilar las principales acciones farmacológicas descritas hasta la fecha de los extractos y principios activos identificados en las especies del género *Hemerocallis.*

El objetivo general ha sido el de atraer la atención sobre la importancia farmacológica de sus metabolitos secundarios y resaltar el interés que su estudio podría tener para la Industria Farmacéutica.

## 4. METODOLOGÍA

Para recabar la información nos servimos del PuntoQ de la biblioteca de la ULL y de bases de datos contrastadas como PubMed, WOS y CSIC. Inicialmente buscamos artículos que versaban sobre aspectos generales del género *Hemerocallis*, taxonomía, biología y cultivo para posteriormente centrarnos en los trabajos sobre el análisis de los extractos provenientes de flores, partes aéreas y raíces de estas plantas, los principios activos identificados y sus acciones farmacológicas.

Una vez que recopilamos un listado inicial de artículos procedimos a la lectura del resumen de cada uno de ellos, decidiendo entonces si era relevante. Los artículos preseleccionados con este criterio fueron leídos con detenimiento y clasificados según la especie de *Hemerocallis* estudiada, la parte de la planta utilizada en el estudio y la acción farmacológica descrita (fig.1).

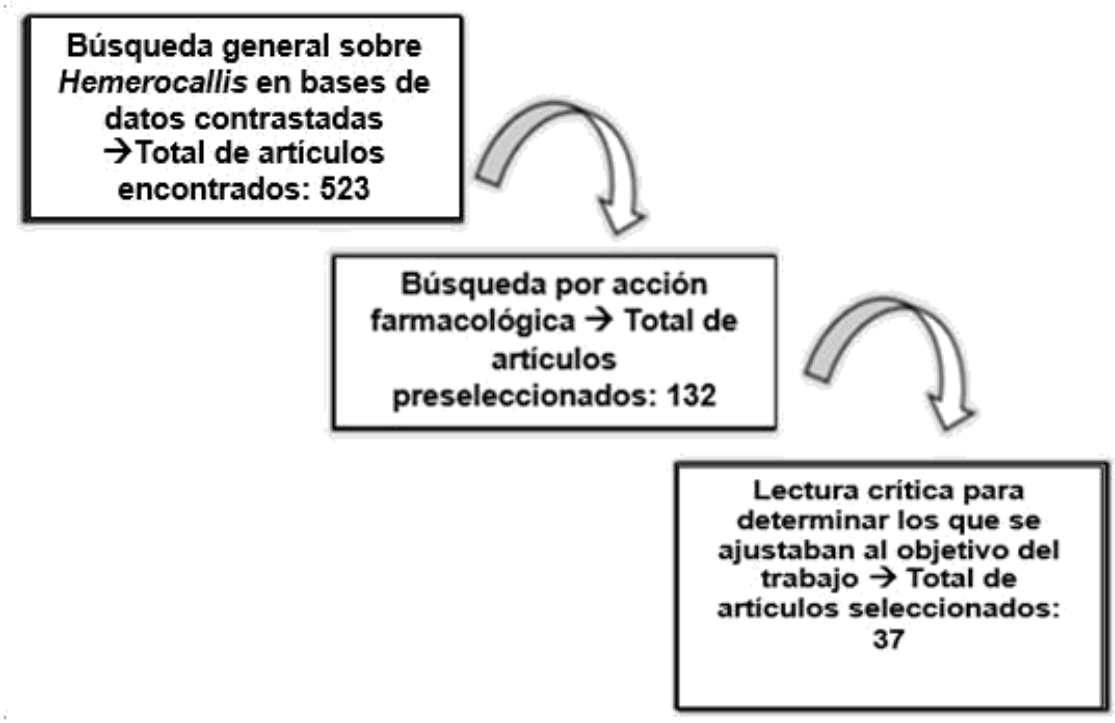


***Fig.1. Diagrama del procedimiento seguido para la recopilación y selección de los artículos utilizados.***

Consultamos también otras fuentes de interés sobre las enfermedades como la web de la Organización Mundial de la Salud (OMS)(www.who.int/es) o Google académico (scholar.google.es/schhphl=es) para los principios activos y estructuras químicas.

# 5. RESULTADOS

Ordenamos la información en tres apartados: clasificación taxonómica, generalidades y morfología, naturaleza de los compuestos aislados y actividades farmacológicas de los extractos y metabolitos aislados según la especie y la parte de la planta analizada.

## 5.1 Clasificación taxonómica, generalidades y morfología

El género Hemerocallis ha sido recientemente incluido en el orden *Asparragales*, familia *Xanthorrhoeaceae*, subfamilia *Hemerocallidoideae*[11] y

está constituido por veintiséis especies que crecen en su mayoría en zonas rocosas y montañosas del este de Asia[1].

Los miembros del género son morfológicamente relativamente uniformes. Son plantas herbáceas y rizomatosas (fig.2)[1,14], con raíces carnosas que suelen formar estructuras tuberosas de reserva, o rizomas (fig.3) de los que salen hojas lineales y largas. El sistema radicular parte de una corona corta, formado por raíces fibrosas y carnosas que son las más jóvenes y que tienen una función de anclaje y de absorción y de raíces tuberosas más engrosadas con función de reserva[15].

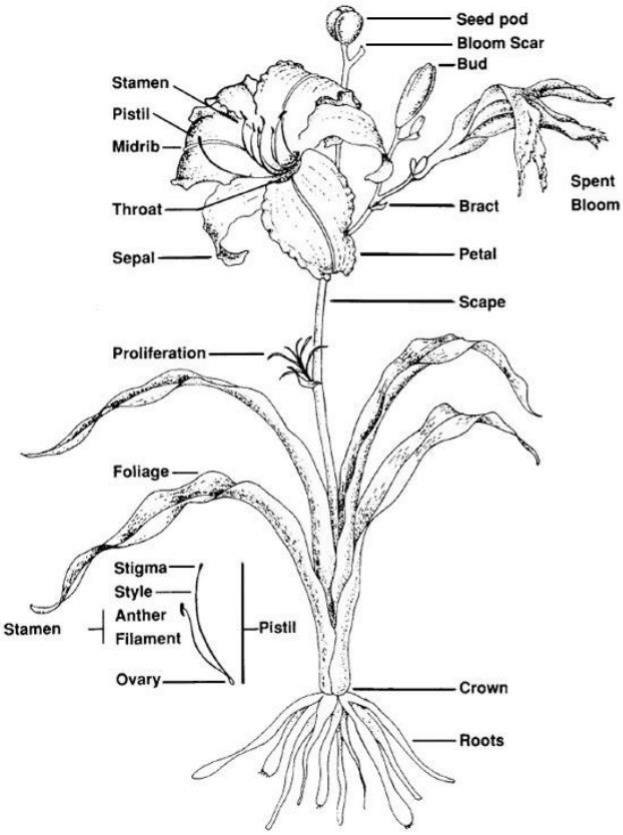


***Fig.2. Planta de Hemerocallis.*** *(Dibujo de Cheryl Postlewait. American Hemerocallis Society, Inc.)*

***Fig.3. Detalle del sistema radicular de los Hemerocallis[15].***

***Fig. 4. Flores de ejemplares híbridos ganadores Premio Stout Silver Medal 2018 y 2017*** *(Izquierda: Emmerich, K. cultivar Entwined In The Vine) Derecha: Gossard. Cultivar Heavenly United We Stand(www.daylilies.org).*

Las flores vistosas con una combinación de colores y formas muy variada (fig.4) nacen de pedicelos cortos en inflorescencias erguidas de pocas a varias flores. Presentan una corola en forma de trompeta, con seis tépalos (tres sépalos y tres pétalos) y seis estambres unidos al tejido tepal en la base de la corola[2] (Fig.5)

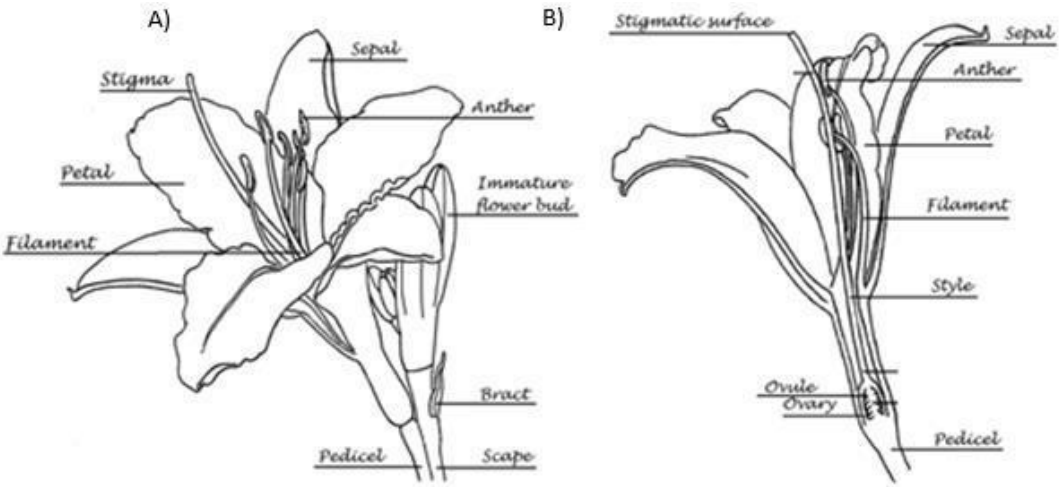


***Fig.5. Anatomía floral básica de Hemerocallis[2].*** *A) Flor madura abierta con un brote inmaduro. B) Diagrama de un corte longitudinal de una flor madura.*

## 5.2 Compuestos identificados

Hasta la fecha las especies más estudiadas han sido *H. citrina y H. fulva*[13] y de ellas se han aislado compuestos como antraquinonas, flavonoides y ácido gálico (AG). En la Tabla 1 recogimos los compuestos

identificados, la clase a la que pertenecen, la especie de *Hemerocallis* estudiada y el órgano de la planta utilizado en el experimento[9,10,14,17,18,19].

| Compuesto | Clase | Especie | Órgano |
|---|---|---|---|
| Rutina<br>kaempferol<br>Quercetina<br>Quercitrina | Flavona | Hemerocallis citrina y fulva | Flores y hojas |
| Crisina | | H. fulva | |
| Hesperidina | Flavononol | | |
| Catequina | Flavanona | H citrina y H. fulva | |
| Ácido gálico | Ácido orgánico | | |
| Morina<br>miricetina | Flavonol | H.fulva | |
| Ácido clorogénico | Compuesto fenólico | Hemerocallis spp | |
| oxipinononina | | Hemerocallis fulva var. sempervirens | |
| 2-hidroxichrisofanol | Antraquinonas | Hemerocallis spp | |
| Kwanzoquinonas A-G<br>Glucósido de naftaleno | | Hemerocallis fulva var. "kwanzo" | Raíces |

***Tabla 1. Principales moléculas identificadas en flores, hojas y raíces de H fulva y H citrina.***

La estructura química de los flavonoides aislados de flores y hojas [24] de *H. fulva y citrina* se muestra en la fig.6.

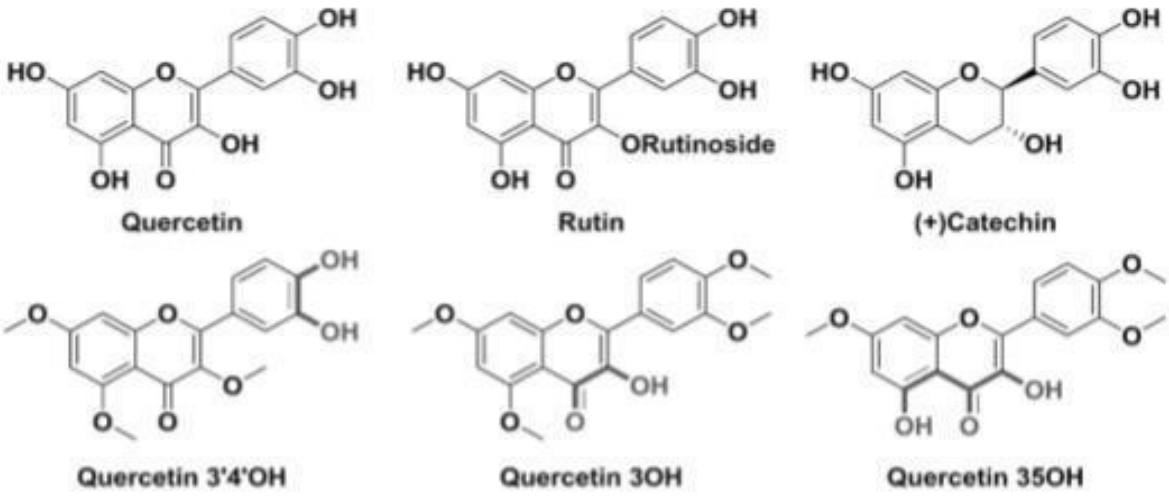


***Fig.6. Estructura química de los distintos flavonoides identificados en Hemerocallis***[26]

Estas moléculas parecen ser las responsables de la capacidad antioxidante, la quelación de iones metálicos y la eliminación de radicales libres[18] habiéndose demostrado que estas propiedades guardan relación con

sus actividades antidepresiva, antiinflamatoria, antioxidante, hipoglucemiante, lipolítica, antitumoral y antiparasitaria.

Las antraquinonas son compuestos aromáticos derivados del antraceno que suelen encontrarse en las raíces[17]. De las raíces y hojas de *Hemerocallis spp.* se han aislado diversas kwanzoquinonas, (fig.7 y fig.8) que se cree son las responsables de su acción antitumoral[20], antiparasitaria frente a *Schistosoma*[10] e hipnótica[22,23].

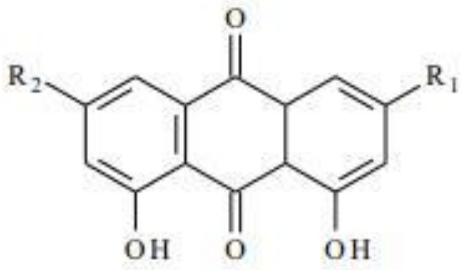


***Fig.7. Estructura química del 2-hidroxicrisofanol****(R1=CH3 y R2=OH)*[19]

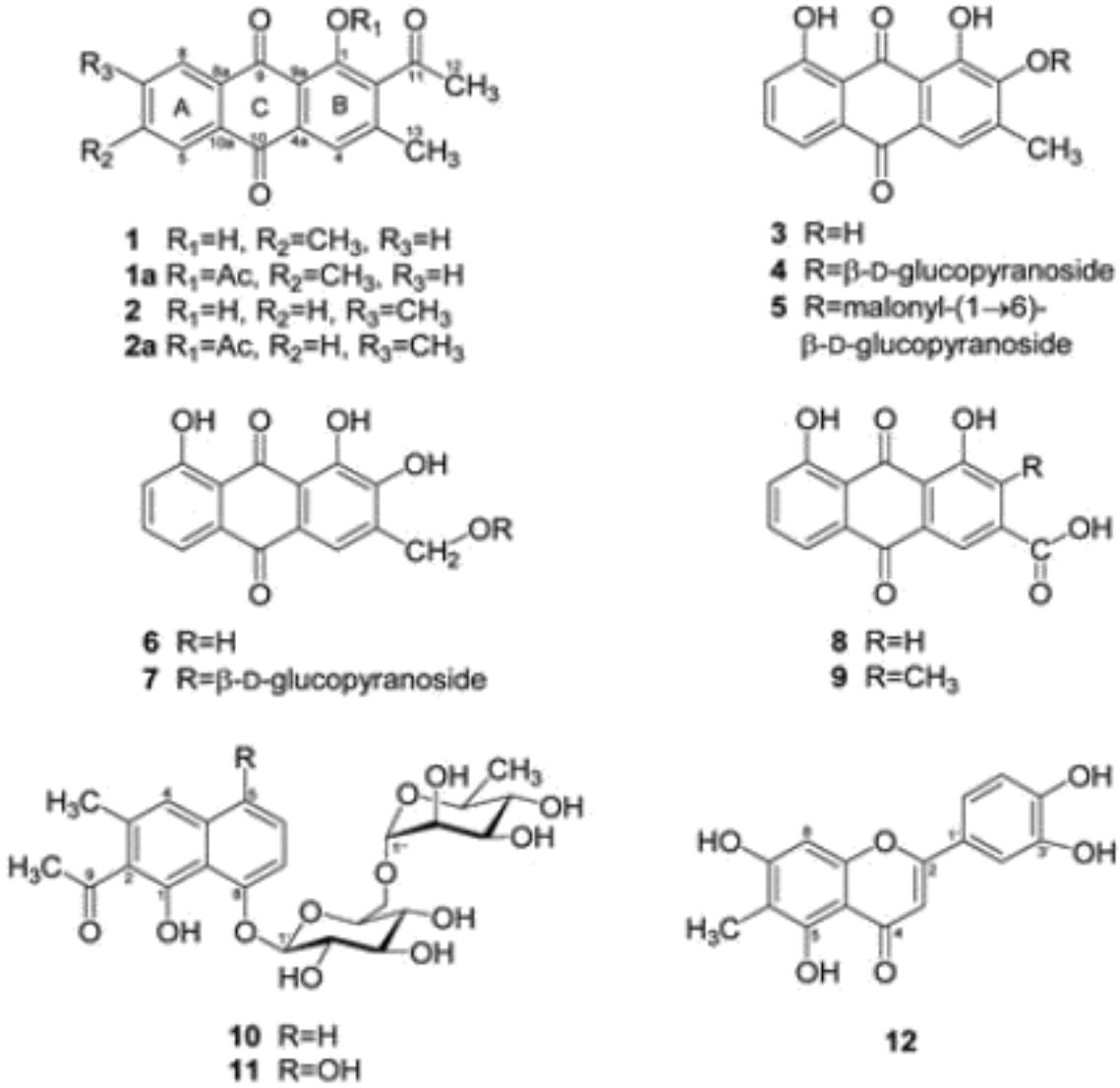


***Fig.8. Estructura química de las Kwanzoquinonas A-G***[10]

## 5.3 Actividades farmacológicas descritas para los extractos y compuestos aislados de diversas partes de las plantas en las especies de Hemerocallis mejor estudiadas.

Hemos reagrupado las acciones farmacológicas de los compuestos identificados según proviniesen de flores y hojas o de raíces.

### 5.3.1 De los extractos y compuestos aislados de flores y hojas

Los estudios realizados hasta la fecha con *H. citrina* y *H. fulva* han permitido asociar la acción antidepresiva, antiinflamatoria, antioxidante, hipoglucemiante, hipnótica y lipolítica mostrada por las flores y las hojas con alguno de los compuestos identificados[28,29].

#### *5.3.1.1 Acción antidepresiva y antiinflamatoria*

La depresión según la OMS(www.who.int/topics/depression/es/) es un trastorno mental caracterizado por tristeza, apatía, culpa, falta de autoestima, trastornos del sueño, del apetito y falta de concentración, que afecta a más de 300 millones de personas en todo el mundo. Esta patología puede hacerse crónica dificultando la confrontación de la vida diaria hasta tal punto que puede llevar al suicidio.

La fisiopatología depresiva suele explicarse en base a dos hipótesis[8]. La de las monoaminas, que presupone que la depresión está causada por un bajo nivel o subactividad de las monoaminas cerebrales serotonina (5-HT), noradrenalina (NA) y dopamina (DA) y la que la relaciona con la inflamación, pues los pacientes suelen presentar concentraciones sanguíneas elevadas de citoquinas proinflamatorias.

En base a la acción antidepresiva de los tratamientos a base de plantas de *H. citrina* descrita por la medicina tradicional china[8] se realizaron diversos estudios que consistieron en tratar con extractos etanólicos[8,29,30] de flores de estas plantas a ratones con patología depresiva inducida por lipopolisacáridos (LPS) lo que provoca en la corteza prefrontal la activación del factor inductor de citoquinas proinflamatorias (NF-KB) y aumenta la producción tanto del inductor de óxido nítrico (iNOS) como de la ciclooxigenasa-2(COX-2)(Tabla 2).

| | |
|---|---|
| **Factor NF-KB** | Induce de la producción de citoquinas proinflamatorias, iNOS y COX-2. Su activación agrava los síntomas antidepresivos. Cuando se inicia la inflamación, el NF-kB se fosforila, se transloca al núcleo, se une a efectores de la inflamación induciendo la expresión génica. |
| **iNOS** | Induce la producción de óxido nítrico (NO), su expresión aumenta la producción de NO y genera estrés oxidativo. |
| **COX-2** | Enzima limitante en la producción de prostaglandinas que. puede generar especies reactivas de oxígeno (ROS) y originar estrés oxidativo. |

***Tabla 2. Papel desempeñado por los factores NF-KB, iNOS y COX-2 en los procesos inflamatorio-depresivo[8].***

Tras el tratamiento se observó que se mejoraban los sistemas inflamatorio, monoaminérgico y neurotrófico, que aumenta la preferencia de la sacarosa (Fig.9) y disminuía y la expresión de los factores proinflamatorios[8] (Fig.10).

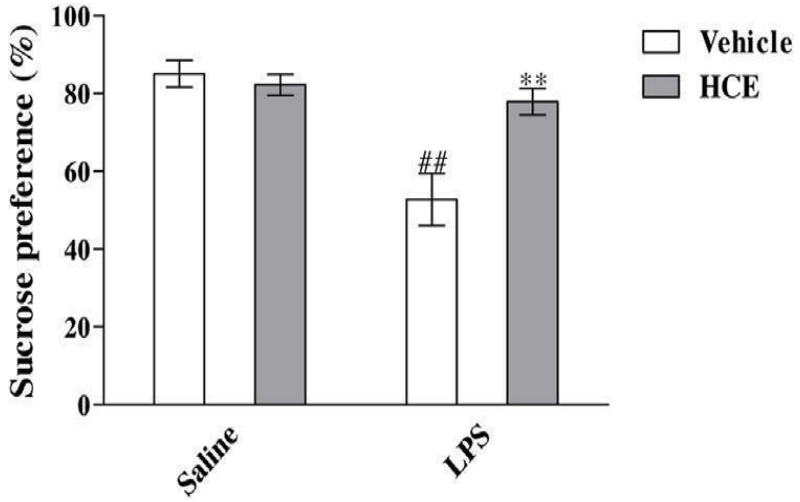


***Fig.9. Efectos de extracto etanólico de Hemerocallis (HCE) en la preferencia por la sacarosa mostrada por ratones inducidos por lipopolisacárido (LPS)****. Los datos se muestran como el Error estándar de la media (SEM) (n a 8 por grupo); #P de la versión 0,01 frente al grupo de control-salino y *P <0,05 frente al grupo LPS-salino[8].*

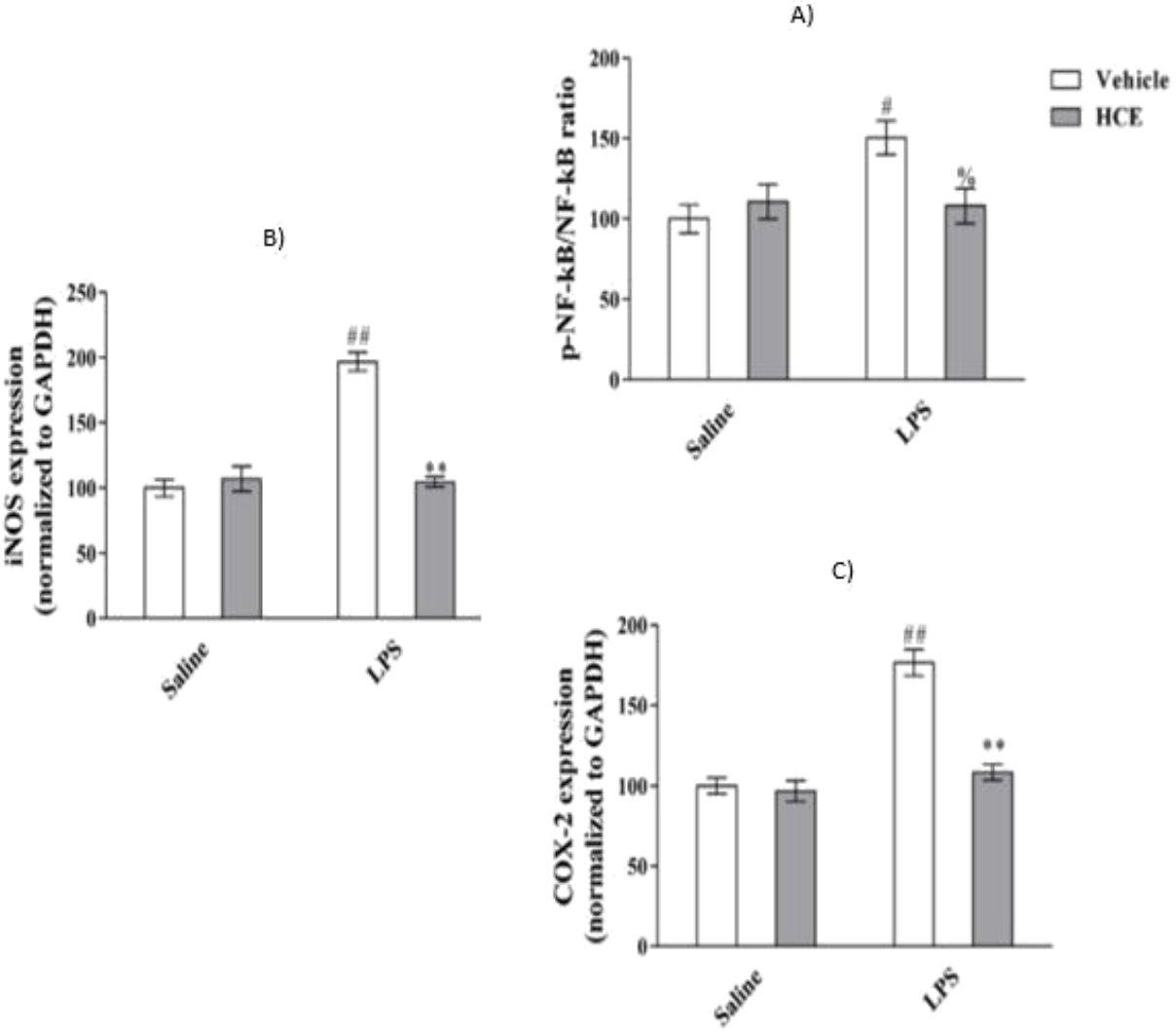


***Fig.10. Efectos de extracto etanólico de flores de H. citrina (HCE) sobre el factor inductor de la activación de citoquinas proinflamatorias (NF-kB), inductor de la producción de óxido nítrico (iNOS) y ciclooxigenasa-2 (COX-2) en la corteza prefrontal de ratones depresivos inducidos por lipopolisacárido (LPS).*** *Los datos se muestran como el SEM (n-3-5 por grupo) con el valor del #P<0,01 frente al grupo control-salino y *P<0,05 y **P<0,01. A) Expresión p-NF-KB/NF-KB ratio vs efecto depresivo inducido por LPS; B) Acción sobre la expresión de iNOS vs efecto depresivo inducido por LPS; C) Expresión COX-2 vs efecto depresivo inducido por LPS*[8].

La actividad antidepresiva de diversos flavonoides aislados de *HCE* se determinó analizando el comportamiento de ratones en distintas pruebas tales como la supresión de cola (TST) (fig.11), la prueba de campo abierto (OST) o midiendo los niveles de monoaminas cerebrales mediante cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) (fig.12)[29].

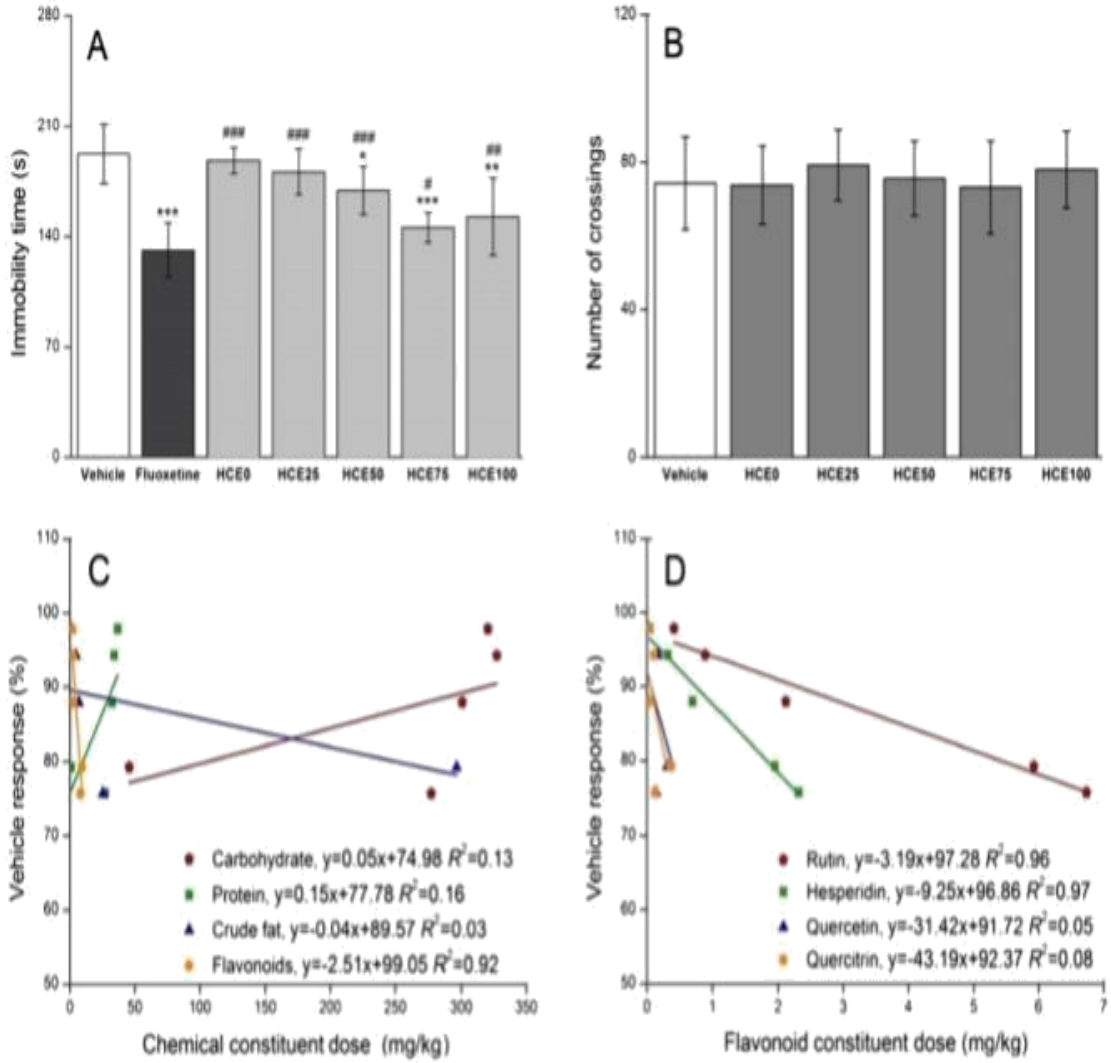


***Fig.11. Efectos del extracto etanólico de H. citrina (HCE) sobre el tiempo de inmovilidad en supresión de cola (TST) (A) y campo abierto (OST) (B), correlaciones aparentes entre compuesto (C) y dosis (D) y el tiempo de inmovilidad en HCE en el TST.*** *Los resultados aparecen expresados como % tiempo de inmovilidad en relación con el grupo control (vehículo) para los efectos similares a los antidepresivos. Los datos se expresan como medias de SEM (n.o 10). Los datos fueron analizados utilizando ANOVA unidireccional para comparaciones múltiples, seguido de la prueba post hoc Student-Newman-Keuls. *p<0.05, **p<0.01 y ***p<0.001 en comparación con el grupo de control; y #p<0.05, #p<0.01 y #p<0.001 en comparación con el grupo de referencia positivo (fluoxetina). La regresión lineal fue realizada junto con la estimación de mínimos cuadrados ordinarios*[9].

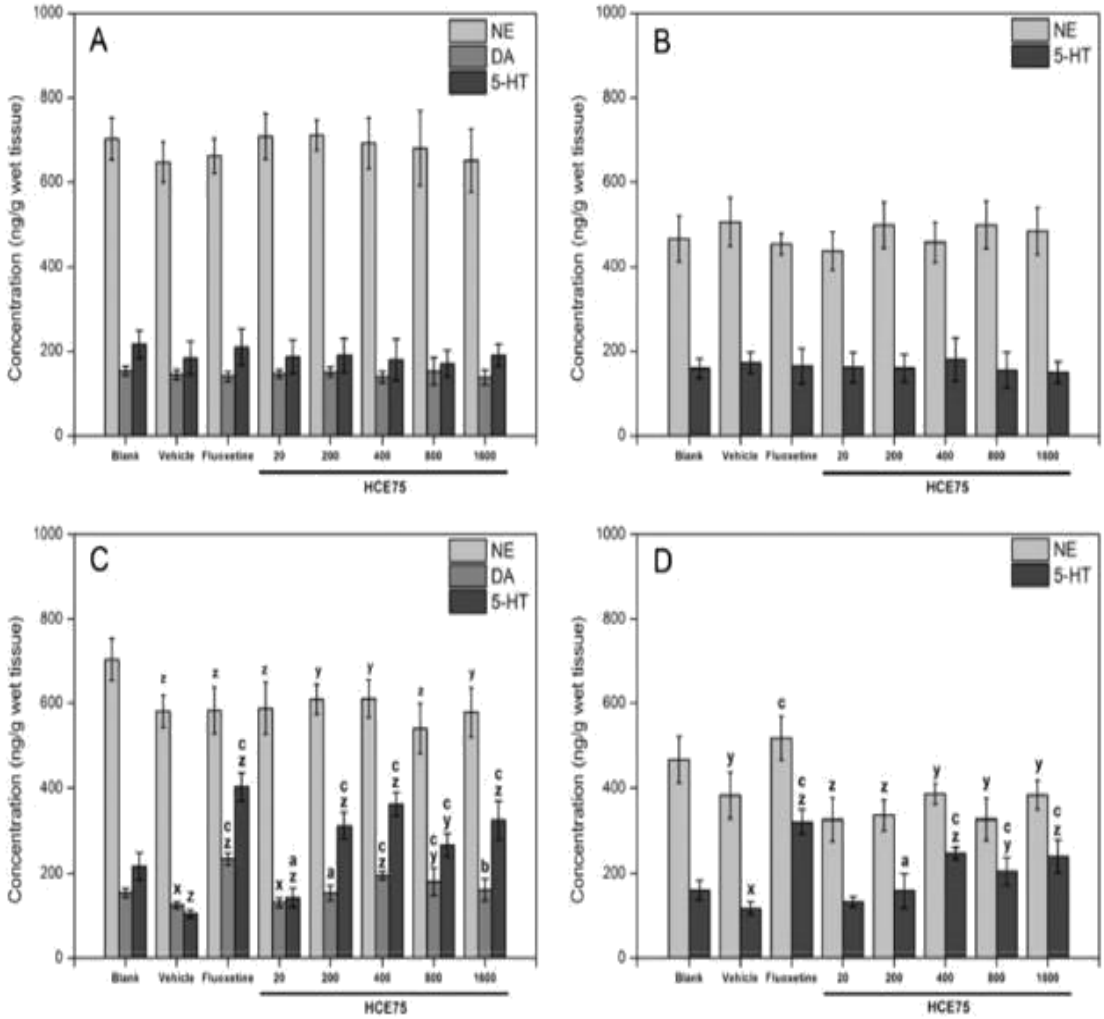


***Fig.12. Efectos de HCE en los niveles de monoamina en la corteza prefrontal (A y C) y el hipocampo (B y D) de ratones sin TST (A y B) o con TST (C y D).*** *Los datos se expresan como medias: S.E.M. (n.o 10). Los datos se analizaron utilizando ANOVA unidireccional para comparaciones múltiples, seguido de la prueba post hoc Student–Newman–Keuls. Xp <0.05, yp < 0.01 y zp <0.001 en comparación con el grupo en blanco; ap <0.05, bp <0.01, y cp <0.001 en comparación con los grupos de vehículos expuestos a TST*[29]*.*

Los ratones de los grupos no expuestos a TST fueron decapitados y sometidos a cirugía cerebral 66 min después de la administración oral del vehículo, fluoxetina y *HCE* así como, los del grupo blanco, aunque no fueron tratados. Los grupos expuestos a TST fueron decapitados y sometidos a cirugía cerebral 60 minutos después del tratamiento.

La acción antidepresiva de los extractos citados fue también observada empleando un modelo depresivo inducido por estrés leve impredecible crónico

(CUMS)[30], midiendo en el experimento los niveles de corticosterona (CORT), de monoaminas cerebrales, del factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) y el estrés oxidativo. En ambas investigaciones se llegó a la conclusión de que el pretratamiento oral con *HCE* tenía una acción similar a los antidepresivos habituales, que era dosis-dependiente y parecía deberse fundamentalmente a la rutina y a la hesperidina[29] y en menor medida a la quercitrina y la quercetina[29]. También se demostró que el tratamiento con estos compuestos mejoraba el comportamiento emocional y la cognición asociadas a la depresión aumentando los niveles de monoaminas y BDNF cerebrales y, disminuyendo la CORT y el estrés oxidativo[30].

#### *5.3.1.2 Acción antioxidante*

El estrés oxidativo se produce cuando aumentan los radicales libres de oxígeno (ROS), generando la pérdida de la homeostasis celular y dañando los tejidos. Se relaciona con el envejecimiento y con enfermedades como el cáncer, la diabetes o enfermedades hepáticas porque induce apoptosis y provoca daño celular[26].

En los extractos de flores de *H. fulva*[28] *y H. citrina*[27] se identificaron AG, catequina y rutina (fig.13).

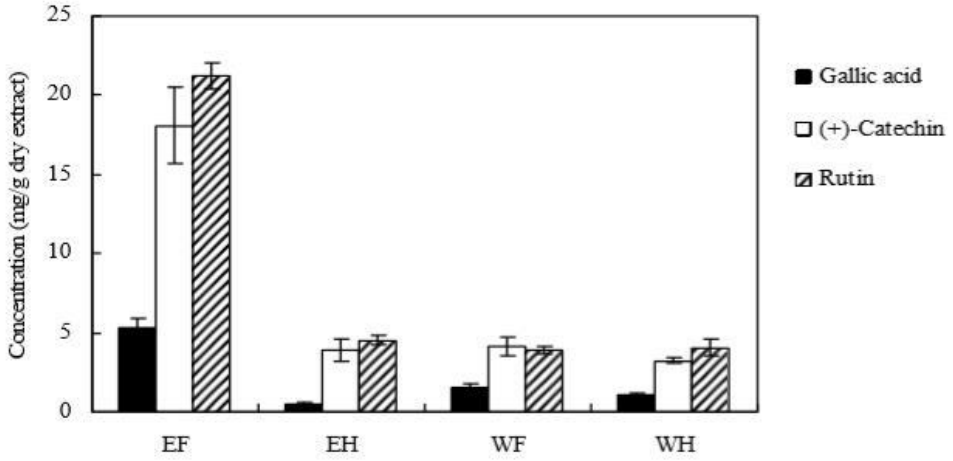


***Fig.13. Variación de la concentración de ácido gálico, catequina y rutina en extractos acuoso y etanólico de flores de Hemerocallis secas en aire caliente o liofilizadas (WH, WF, EH, EF) analizados por HPLC.*** *WH: extracto acuoso de flores secas en aire caliente; WF: extracto acuoso de flores liofilizadas; EH: extracto etanólico de flores secas en aire caliente; EF: extracto etanólico de flores liofilizadas*[28].

Observándose que su concentración era mayor cuando las flores eran liofilizadas y los compuestos extraídos con etanol que cuando éstas se secaban en caliente y se extraían con agua[28].

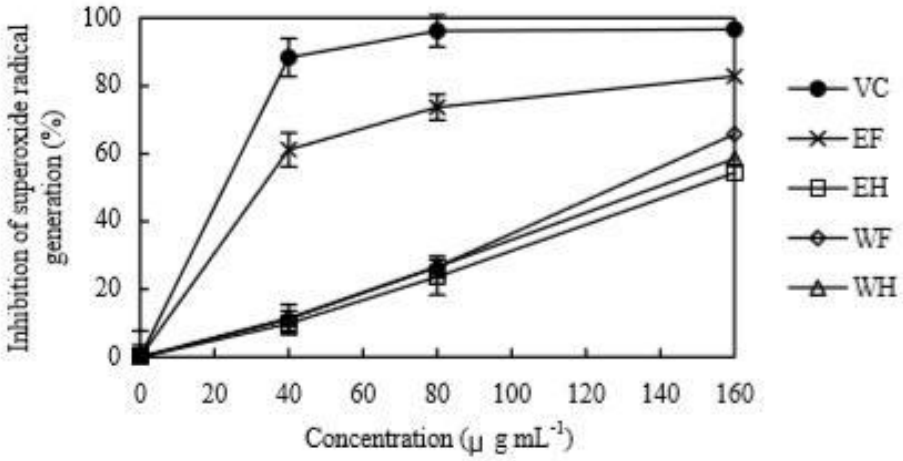


***Fig.14. Actividad antioxidante en extractos acuoso y etanólico de flores de H. fulva secadas en aire caliente y liofilizadas (WH, WF, EH, EF) y vitamina C (VC)[28].***

El análisis de la actividad antioxidante del HCE "in vitro" en células hepáticas de rata (BRL-3A) sometidas a estrés oxidativo inducido por tert-butilo (t-BHP), determinó que el pretratamiento con HCE disminuía la acumulación de ROS (fig.15) de forma dosis-dependiente, inhibiendo la apoptosis, aumentando la actividad enzimática antioxidante y los niveles de glutatión (GSH), protegiendo a las células del daño oxidativo[27].

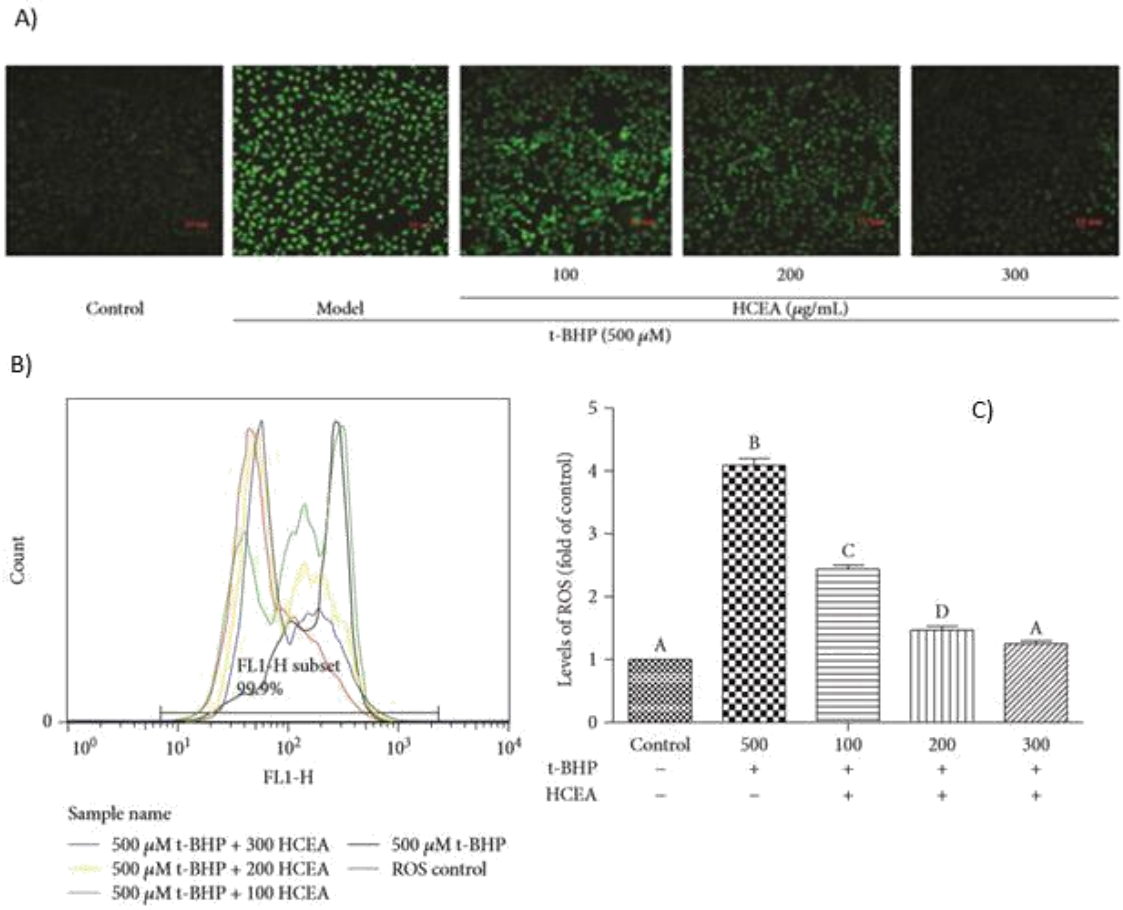


***Fig.15. Efecto del extracto etanólico de H. citrina sobre la producción de ROS.*** *La fracción de acetato de etilo de Hemerocallis citrina baroni (HCEA) inhibe la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS). A) Fluorescencia de células BRL-3A observadas bajo microscopio de fluorescencia (aumento de 200); B) Citometría de flujo; C) cuantificación del nivel de ROS. Diferentes letras indican diferencias significativas (P <005)*[27]*.*

La tabla 3 recoge el contenido fenólico y flavonoide, la actividad antioxidante y el poder reductor de varias fracciones de un extracto de flores de *H. citrina*[27].

| Muestra | Contenido fenólico (mg/g) | Contenido en flavonoides (mg/g) | $IC_{50}$ (µg/mL) | | Poder reductor |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | DPPH | ABTS | |
| HCNH | 14.55 ± 0.001 | 18.90 ± 0.084 | 5596 ± 3.74 | 1819 ±0.182 | 78.94 ± 0.004 |
| HCEA | 102.86 ± 0.004 | 196.58 ± 0.015 | 20.82 ± 1.318 | 7.226 ± 0.009 | 4.497 ± 0.045 |
| HCNB | 63.31 ± 0.007 | 56.69 ± 0.004 | 115.4 ± 0.051 | 10.35 ± 0.032 | 8.025 ± 0.019 |
| HCW | 18.34 ± 0.095 | 53.23 ± 0.007 | 796 ± 0.215 | 80.58 ± 0.065 | 16.21 ± 0.015 |
| Vc | Nd | Nd | 3.12 ±0.497 | 3.779± 0.003 | 0.9065 ±0.148 |
| BHT | nd | Nd | nd | Nd | 2.954 ±0.089 |

***Tabla 3. Contenido fenólico y flavonoide, actividad antioxidante y poder reductor de varias fracciones de extracto de H. citrina Baroni.*** *HCNH (fracción n-hexano de extracto H. citrina Baroni); HCEA (fracción de acetato de etilo H. citrina baroni); HCNB (n-butanol); HCW (acuosa); DPPH (2,2-difenil-1-picrilhydrazyl; ABTS (2,2'- azino-bis (3-etilbenzodiazoline – 6-acido sulfónico); nd (no detectado). DPPH y ABTS: métodos de evaluación de la actividad antioxidante, resultados expresados como concentración inhibitoria (IC50)*[27].

Los métodos de evaluación de la actividad antioxidante (DPPH y ABTS) permiten evidenciar que la actividad antioxidante mostrada por las fracciones de extractos de flores de *H. citrina* se debe a una reducción de la concentración de especies reactivas de oxígeno.

### *5.3.1.3 Acción hipoglucemiante*

La diabetes está considerada como una enfermedad crónica producida por disminución de la producción pancreática de insulina o el uso ineficaz de la misma por el organismo(*www.who.int/diabetes*). Su descontrol produce hiperglucemia, eleva la concentración de glucagón y otras sustancias endógenas que ocasionan daño celular, inflamación y estrés oxidativo[31].

La actividad hipoglucemiante de los extractos acuoso y etanólico de las flores de *H.fulva (HFE)* parece ser debida a los ácidos fenólicos, flavonoides y triterpenos que contienen y esta es mayor cuando se aplican asociados[32]. Cuando se aplican estos extractos a células endoteliales de vena umbilical humana (HUVE) inducidas a muerte celular programada por hiperglucemia, a concentraciones de entre 0.5% y 2% se observó que se mejora la viabilidad celular debido a la supresión de la expresión de los factores reguladores de la apoptosis Bcl-2 y ARNm Bax y a la inhibición de la actividad de la caspasa-3 y 8 responsables del cambio morfológico celular (fig.16).

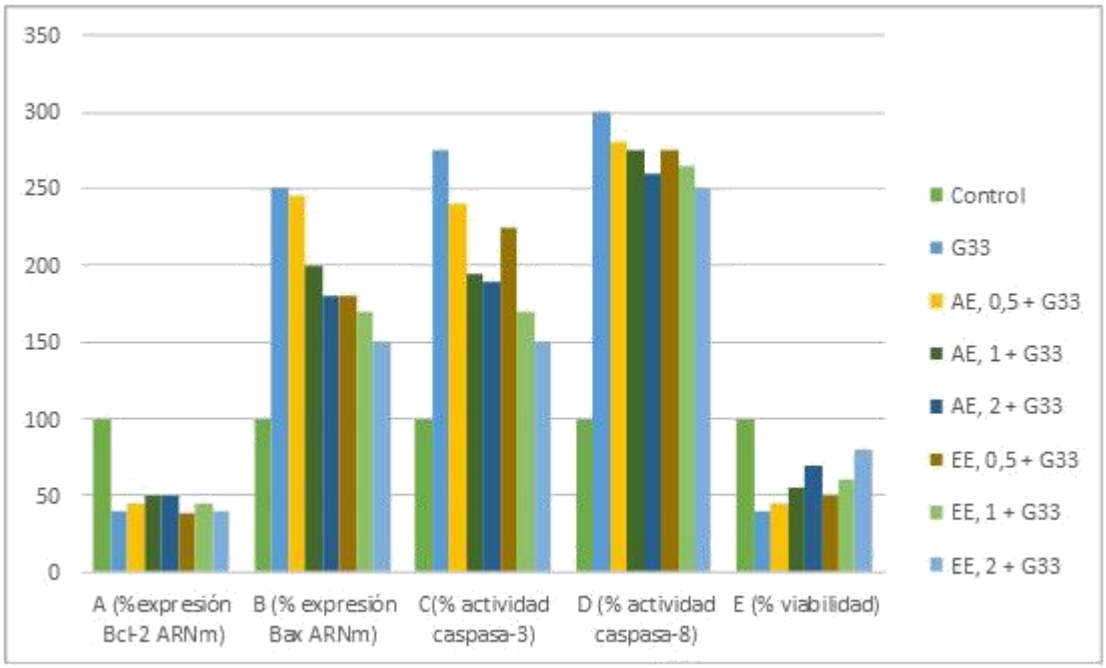


***Fig.16. Efecto de los extractos acuoso (AE) y etanólico (EE) de H. fulva sobre la expresión de ARNm de Bcl-2 (A), sobre Bax (B), sobre la actividad de la caspasa-3 (C) de la capasa-8 (D) y sobre la viabilidad celular(E)****. Control: células sin AE o EE, y tratadas con glucosa 5,5mM. Los datos son medios: SD (n.o 5). a-d Valores entre barras sin una letra común difieren, P <0,05* [32].

### *5.3.1.4 Acción hipnótica*

El insomnio es la dificultad para iniciar o mantener el sueño durante un periodo de al menos un mes que suele ir acompañado de fatiga diurna, sensación de malestar y deterioro social, laboral o personal[9]. Se calcula que entre un 10-15% de la población adulta sufre de insomnio crónico y que entre un 25-35% tienen insomnio ocasional[37].

Tradicionalmente las flores y hojas de *H.fulva var. sempervirens* son consumidas en Japón como ayuda para conciliar el sueño[23]. Al administrar flores liofilizadas a ratones[22] a los que se sometió a un análisis electroencefalográfico pudo observarse que el sueño de onda lenta y el paradójico aumentaba durante la fase de oscuridad (Tabla 4).

| | SWS | | PS | |
|---|---|---|---|---|
| | *Control* | *Tratados* | *Control* | *Tratados* |
| **Luz** | *58.8 ± 8.3* | *57.9 ± 8.9* | *5.8 ± 2.1* | *5.0 ± 1.8* |
| **Oscuridad** | *37.8 ± 11.1* | *61.4 ± 7.5** | *3.2 ± 0.7* | *5.9 ± 1.5** |
| **24h** | *44.5 ± 10.0* | *59.6 ± 7.9* | *4.5 ± 1.4* | *5.5 ± 1.3* |
| **P < 0.05, comparado con el grupo control* | | | | |

***Tabla 4. Porcentaje de tiempo de grabación en sueño de onda lenta (SWS) y sueño paradójico (PS) durante el período de luz, oscuridad y período de 24 horas para el control y ratones tratados con el extracto etanólico de H.fulva var. Sempervirens***[22].

En el extracto metanólico de hojas frescas de *H.fulva var. sempervivens* se encontró oxipinononina y se comprobó que su administración oral de 30 mg/kg a ratones disminuía el tiempo de vigilia, aceleraba la transición vigilia-sueño NREM y aumentaba el tiempo de sueño NREM (fig.17) y provocaba una actividad hipnótica[23].

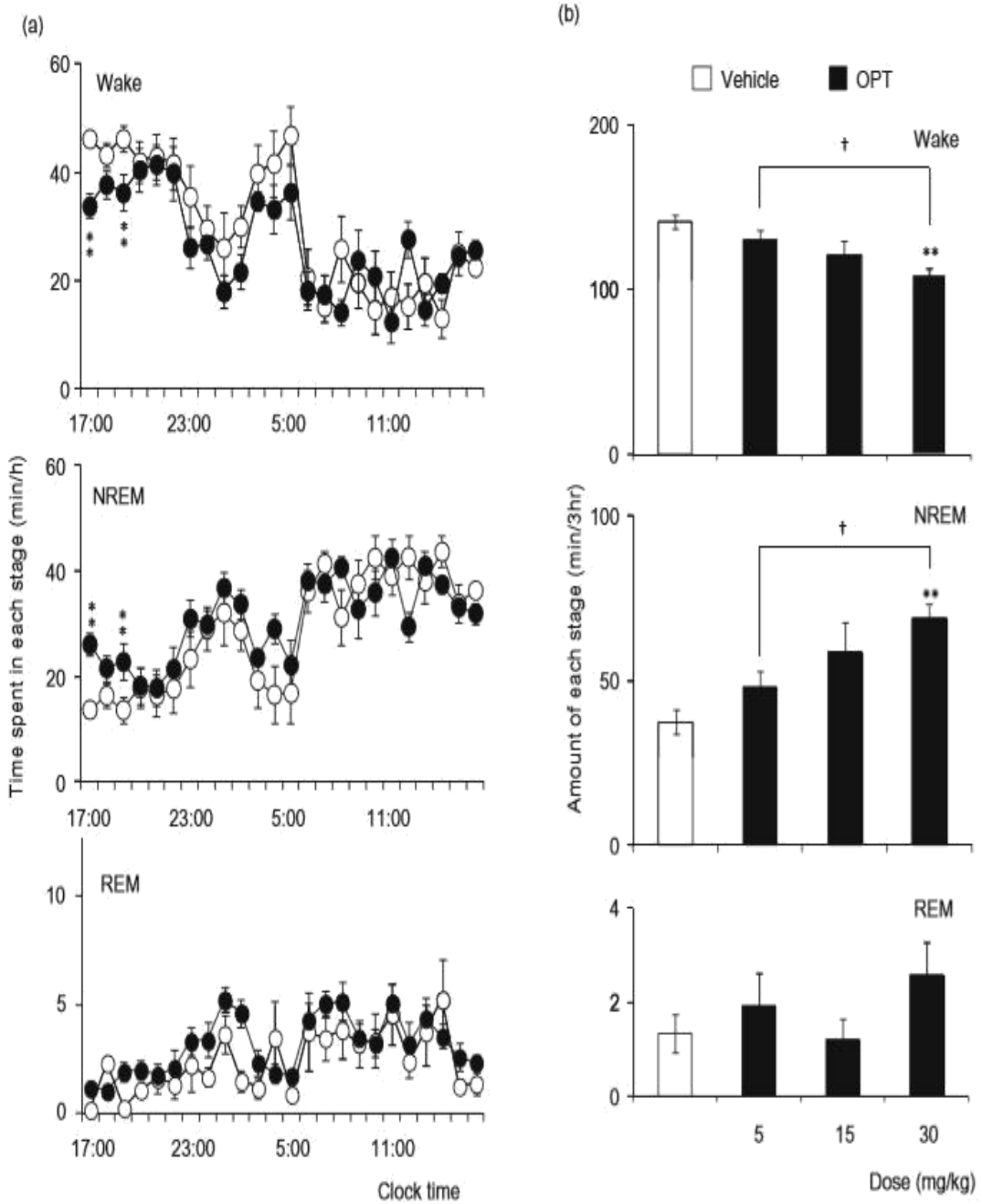


***Fig.17. Tiempo de vigilia, sueño NREM y sueño REM durante 24 h (a); (b) Tiempo total dedicado a la vigilia, sueño NREM y sueño REM durante 3 h después de la administración del vehículo y oxipinononina (OPT) a una dosis de 5, 15 o 30 mg/kg***.

*(a)Cada círculo representa la media de horas de vigilia, NREM y sueño REM. **P <0.01 versus control del vehículo por prueba t emparejada de dos colas. (b) Cada valor representa la media SE (n x 8). **P <0.01, en comparación con el control del vehículo y el valor de la <p <0,05 frente a los 5 mg/kg por ANOVA unidireccional con la prueba de Scheffé. Valor F de la activación: F (3, 28) a 2.9680, valor F de NREM: F (3, 28) a 2.9668.*[23]

### 5.3.1.5 *Acción lipolítica*

La obesidad y el sobrepeso resultan de la acumulación anormal o excesiva de grasa, siendo factores de riesgo en enfermedades crónicas como diabetes, enfermedades cardiovasculares o cáncer. Datos recientes indican que alrededor de 1900 millones de adultos tienen sobrepeso, que alrededor de 650 millones sufren de obesidad y que cada año mueren por estas causas cerca de 2.8 millones de personas (*www.who.int/features/factfiles/obesity/es/*).

Se sabe que la obesidad induce la resistencia de los adipocitos a la acción lipolítica de las catecolaminas por lo que se acumula grasa corporal en exceso[33]. En un estudio realizado sobre la actividad lipolítica de extractos etanólicos de flores de *H. fulva* (HE) sobre adipocitos subcutáneos de rata[33] pudo observarse que si bien el HE por sí solo no era capaz de promover la lipólisis, sí la potenciaba cuando era aplicado en combinación con NA mejorando la movilidad adiposa y suprimiendo la acumulación de grasa (fig.18).

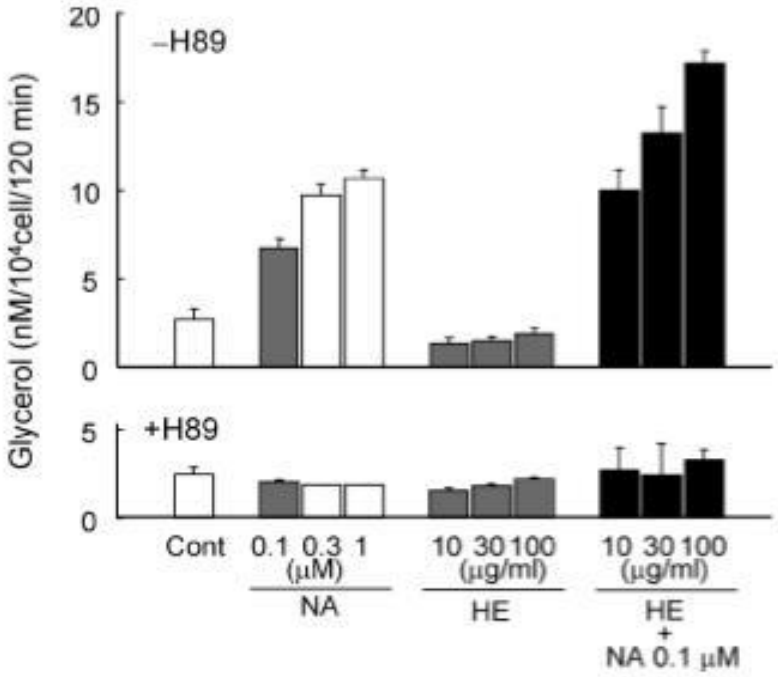


***Fig. 18. Efecto combinado del extracto etanólico de flores de H. fulva (HE) y de la noradrenalina (NA) sobre la lipólisis.*** *Los adipocitos fueron aislados de la almohadilla de grasa subcutánea y tratados con HE, NA y H89 (inhibidor de la PKA) (50 IM) durante 120 min, midiendo el glicerol liberado. Cada valor representa la media de 6 SEM de tres tubos de incubación para cada condición[33].*

### 5.3.2 De extractos y compuestos aislados de raíces

Estudios realizados con extractos de raíces de *H. fulva var. Kwanzo*, han demostrado la presencia de antraquinonas considerándolas responsables de la acción antitumoral y antiparasitaria[20,10]

#### *5.3.2.1 Acción antitumoral*

El cáncer es un grupo de enfermedades que afectan al organismo caracterizado por la proliferación y diseminación de células anormales, pudiendo propagarse produciendo "metástasis" (*www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cancer*). La OMS lo considera como la segunda causa de muerte y una de las patologías con mayor impacto económico.

Varios estudios realizados con extractos de raíces de *H. fulva* han demostrado que estos tienen actividad antiproliferativa tumoral y que cuando se aplican asociados con las vitaminas C y E reducen en un 50% la viabilidad de las células tumorales.

Las antraquinonas parecen producir reacciones de bioreducción en diferentes líneas tumorales (tabla.5 y fig.19), como el caso de cáncer de mama en el que se vio que un tratamiento con Kwanzoquinonas A y B inducía la diferenciación celular produciendo el 43% de muerte celular tumoral[20] aunque se desconoce el mecanismo de acción[21,12].

| Compuesto | Línea celular (GI50, µg/mL) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | MCF-7 (mama) | SF-268 (SNC) | HCT-116 (colon) | NCI-H460 (pulmón) |
| 1 y 2[a] | 2.6 ± 0.6 | 14.7 ± 2.5 | 13.5 ± 0.9 | 10.3 ± 1.2 |
| 1[a] y 2a[a] | 1.8 ± 0.2 | 5.34 ± 0.8 | 10.5 ± 0.7 | 8.5 ± 0.6 |
| 3 | 6.5 ± 1.2 | 2.4 ± 1.8 | 6.3 ± 0.8 | 6.3 ± 0.8 |
| 4 | 6.7 ± 0.4 | 6.1 ± 1.0 | 7.4 ± 0.6 | 3.8 ± 0.3 |
| 5 | >25 | >25 | >25 | >25 |
| 6 | 2.8 ± 0.3 | 3.8 ± 0.7 | 5.0 ± 0.3 | 7.3 ± 0.7 |
| 7 | >25 | >25 | >25 | >25 |
| 8 | 17.2 ± 0.8 | 16.3 ± 1.8 | 21.1 ± 1.8 | 15.4 ± 1.7 |
| 9b> | >25 | >25 | >25 | >25 |
| adriamycin[b] | 1.7 ± 0.2 | 1.9 ± 0.7 | 2.1 ± 0.6 | 1.7 ± 0.4 |

[a] Prueba con una mezcla de 1:1 de ambos compuestos

[b] Valores de adriamycin (control positivo) se expresan en µM

***Tabla 5. Efecto inhibidor de la proliferación celular de cuatro líneas celulares de cáncer, de las antraquinonas aisladas de las raíces de Hemerocallis fulva***[20].

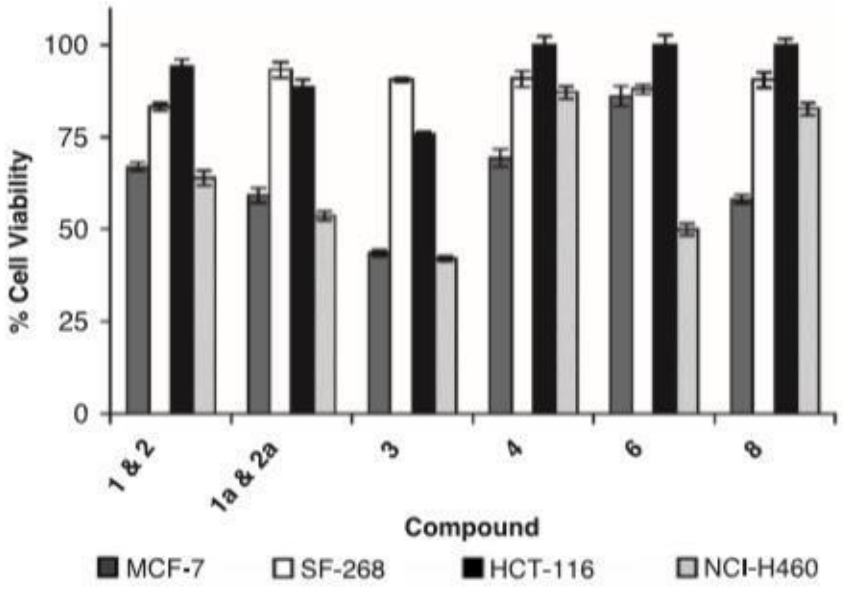


***Fig.19. Influencia sobre la viabilidad celular en cuatro líneas celulares cancerosas humanas expuestas a concentraciones de $GI_{50}$ de las antraquinonas aisladas de raíces Hemerocallis fulva según lo determinado por el ensayo de reducción metabólica (MTT (colorante)).*** *MCF-7: mama, SF-268: SNC, HCT-116: colon, NCI-H460: pulmón. Concentraciones del $GI_{50}$ (concentración inhibitoria del 50% del crecimiento celular)*[20].

### 5.3.2.2 Acción antiparasitaria

La esquistosomiasis es una parasitosis causada por trematodos del género *Schistosoma* que se contrae en aguas infestadas y es prevalente en regiones tropicales y subtropicales debido a las deficientes condiciones higiénico-sanitarias (www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/schistosomiasis).

En un estudio realizado con objeto de determinar la actividad antiparasitaria "in vitro" de las kwanzoquinonas extraídas de raíces de *H. fulva* sobre *Schistosoma mansoni*[10] a lo largo de las múltiples etapas de su vida y en el que se valoró el movimiento y el comportamiento de natación de la etapa larval acuática invasiva a los 10 min después de la adición del compuesto de prueba, se encontró que el 2-hidroxicrisofanol y la kwanzoquinona E fueron los compuestos con mayor actividad, produciendo la inmovilización y muerte de entre el 80% y el 100% de las cercarias y de entre el 35% y el 55% de los adultos (fig.20).

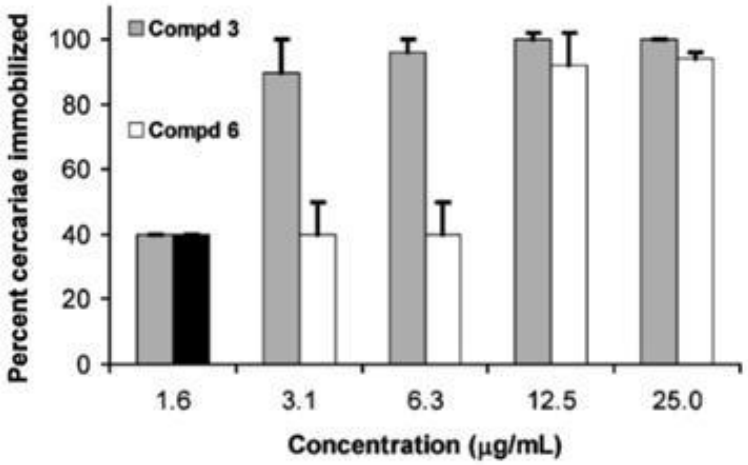


***Fig.20. Efecto de 2-hidroxicrisophanol (3) y kwanzoquinona E (6) sobre la movilidad de las cercarias de S. mansoni[10].*** *Los datos se representan como media de la desviación estándar (n=10).*

# 6. DISCUSIÓN

El género Hemerocallis se ha empleado durante siglos en la medicina tradicional asiática. Los datos recopilados en esta revisión muestran que se los compuestos aislados en las especies de este género tienen diversas acciones farmacológicas. Así de sus flores se han aislado compuestos como la **rutina**, la **hesperidina**, la **quercitrina** o la **quercetina**, y se ha comprobado que su aplicación en ratones aumenta el nivel de neurotransmisores de la corteza cerebral y disminuye la liberación de agentes proinflamatorios del mismo modo que los **antidepresivos**, pero aparentemente sin sus efectos secundarios. Se ha visto que otras moléculas aisladas de flores de *Hemerocallis spp*. como la **catequina** o el **AG**, inhibe "in vitro" la producción de ROS al aumentar la actividad enzimática **antioxidante** protegiendo a las células del estrés oxidativo.

Los **ácidos fenólicos**, **flavonoides** y **triterpenos** aislados de las flores y de las hojas, aplicadas "in vitro" a células humanas reducen el daño celular consecuencia de la hiperglucemia e inhiben los factores reguladores de la apoptosis, lo que los hace buenos candidatos para el tratamiento de la **diabetes** [31].

Se ha demostrado que la **oxipinononina** aislada de las hojas de *H. fulva* presenta actividad **hipnótica** en ratones[24] acelera la transición vigilia-sueño NREM y aumenta la cantidad de tiempo de la fase NREM y de ahí su interés como tratamiento para el **insomnio**.

La administración conjunta del extracto etanólico de flores de *H. fulva* y de NA estimula la lipólisis inhibiendo la acumulación de grasa en los adipocitos[34] del tejido subcutáneo de rata y abre el camino para su posible uso en el tratamiento de la **obesidad**, **sobrepeso** o la medicina estética.

Las **antraquinonas** presentes en las raíces son compuestos muy activos que muestran *"in vitro"* tanto actividad **antiparasitaria** por inmovilización y fulminación de *Schistosoma* en las múltiples etapas de la

vida, como actividad **antiproliferativa** sobre diversas líneas celulares cancerígenas sin aparentes efectos secundarios.

Por todo lo expuesto creemos que sería muy interesante extender la búsqueda de compuestos farmacológicamente activos a especies o variedades de *Hemerocallis* no estudiadas hasta la fecha. Se da la circunstancia de que en Tenerife, los *Hemerocallis spp,* están presentes y perfectamente aclimatados en parques y jardines desde hace más de 150 años[15] existiendo en la Isla una importante colección de especies e híbridos. Este material podría ser idóneo para estas nuevas investigaciones si consideramos que tanto la naturaleza de las sustancias activas como su contenido en las plantas depende en gran medida de las condiciones climáticas[15].

## 7. CONCLUSIONES

El conjunto de datos recogidos y discutidos en esta revisión nos permite concluir que:

Las investigaciones más recientes están contribuyendo a dar un soporte científico a los usos tradicionales de las plantas del género *Hemerocallis,* confirmando que contienen metabolitos con acción antidepresiva, antiinflamatoria y antioxidante aunque los experimentos y los datos en apoyo de su acción lipolítica o hipoglucemiante sean todavía escasos.

Hasta la fecha la actividad farmacológica de las sustancias activas, a excepción de su acción antiparasitaria se ha demostrado únicamente en ratones o “in vitro” por lo que su estudio debería extenderse “*in vivo”* al objeto de determinar su efectividad en humanos.

Los resultados sobre la actividad antiproliferativa tumoral de sus antraquinonas son prometedores pero dada la importancia y la incidencia de esta patología se deberían de realizar investigaciones con objeto determinar su mecanismo de acción y su metabolismo.

Canarias en general y Tenerife en particular por gozar de unas condiciones climáticas inmejorables y diversas y por tener la gran fortuna de poder contar con una importante colección de estas plantas y con Institutos de Excelencia Internacional, podría ser el lugar ideal para liderar los nuevos proyectos sobre este género.

# 8. BIBLIOGRAFÍA


1. Stout AB. Daylilies: the wild species and garden clones, both old and new, of the genus Hemerocallis. Sagapress. 1934.
2. Rodriguez-Enriquez MJ, Grant-Downton RT. A new day dawning: Hemerocallis (daylily) as a future model organism. AoB Plants. 2013;5.
3. Panavas T, Pikula A, Reid PD, Rubinstein B and Walker EL. Identification of senescence-associated genes from daylily petals. Plant Molecular Biology. 1999;40(2):237-248.
4. Gulia, Surinder K., et al. "3 Daylily: Botánica, Propagación, Cría". Revisiones hortícolas. 2009;35:193.
5. Stout AB, Chandler C. 1933. Pollen-tube behavior in Hemerocallis with special reference to incompatibilities. Bulletin of the Torrey Botanical Club 60: 397–416.
6. Erhardt W. Hemerocallis: daylilies. Timber Press Inc. 1992
7. Tian H, Yang FF, Liu CY, Liu XM, Pan RL, Chang Q. et al. Effects of phenolic constituents of daylily flowers on corticosterone and glutamate-treated PC12 cells. BMC Complement Altern Med. 2017 Jan 21;17(1):69.
8. Li CF, Chen XQ, Chen SM, Chen XM, Geng D, Liu Q. et al. Evaluation of the toxicological properties and anti-inflammatory mechanism of Hemerocallis citrina in LPS-induced depressive-like mice. Biomed Pharmacother. 2017 Jul;91:167-173.
9. Ogawa Y, Konishi T. N-glycosides of amino acid amides from Hemerocallis fulva var. sempervirens. Chemical and Pharmaceutical Bulletin. 2009;57(10):1110-1112.
10. Cichewicz RH, Lim KC, McKerrow JH, Nair MG. Kwanzoquinones A–G and other constituents of Hemerocallis fulva ‘Kwanzo’roots and their activity against the human pathogenic trematode Schistosoma mansoni. 2002;58(42):8597-8606.
11. Chase MW, Christenhusz MJM, Fay MF, Byng JW, Judd WS, Soltis. Et al. Una actualización de la clasificación de Angiosperm Phylogeny Group para los pedidos y familias de plantas con flores: APG IV. Revista botánica de la Sociedad de Linnean. 2016;181(1):1-20.
12. Zhang Y, Cichewicz RH, Nair MG. Lipid peroxidation inhibitory compounds from daylily (Hemerocallis fulva) leaves. Life Sci. 2004 Jun 25;75(6):753-63.
13. Kaneshiro T, Suzui M, Takamatsu R, Murakami A, Ohigashi H, Fujino T. el al. Growth inhibitory activities of crude extracts obtained from herbal plants in the Ryukyu Islands on several human colon carcinoma cell lines. Asian Pac J Cancer Prev. 2005 Jul-Sep;6(3):353-8
14. Dahlgren RMT, Clifford HT, Yeo PF. The families of the monocotyledons (structure, evolution, and taxonomy). Berlin Springer. 1985.
15. Davó A. Aislamiento de constituyentes químicos bioactivos de las raíces de lirios de día. TFG Grado en Farmacia. 2018
16. González-Mulero L. “Hemerocallis” nueva fuente de moléculas aplicables al tratamiento de algunas enfermedades actuales. TFG Grado en Farmacia. 2016
17. Martínez A. Quinonas y compuestos relacionados. Facultad de Química Farmacéutica Universidad de Antioquia, Colombia. 2009

18. Cartaya O. Flavonoides: características químicas y aplicaciones. Cultivos tropicales. 2013;22(2):5-14.
19. Martínez-Flórez S, González-Gallego J, Culebras JM, Tuñón M. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Nutr Hosp. 2002;17(6):271-278.
20. Cichewicz RH, Zhang Y, Seeram NP, Nair MG. Inhibition of human tumor cell proliferation by novel anthraquinones from daylilies. Life Sci. 2004 Feb 20;74(14):1791-9.
21. Barasch D, Zipori O, Ringel I, Ginsburg I, Samuni A, Katzhendler J. Novel anthraquinone derivatives with redox-active functional groups capable of producing free radicals by metabolism: are free radicals essential for cytotoxicity?.European journal of medicinal chemistry. 1999;34(7-8):597-615.
22. Zhang Y, Cichewicz RH, Nair MG. Lipid peroxidation inhibitory compounds from daylily (Hemerocallis fulva) leaves. Life Sci. 2004 Jun 25;75(6):753-63.
23. Uezu E. Effects of Hemerocallis on sleep in mice. UEZU, E. Psychiatry and clinical neurosciences. 1998;52(2):136-137.
24. Ogawa Y, Minamizawa A, Tada S, Konishi T. Variation of Body Temperature After Administration of Amino Acid Amides. Research Journal of Phytochemistry. 2013;7(1):10-17.
25. Liu LY, Chang LY, Chou SS, Hsiao YL, Chien YW. Studies on the antioxidant components and activities of the methanol extracts of commercially grown Hemerocallis fulva L.(daylily) in Taiwan. Journal of food biochemistry. 2014;34:90-104.
26. Tian H, Yang FF, Liu CY, Liu XM, Pan RL, Chang Q. et al. Effects of phenolic constituents of daylily flowers on corticosterone- and glutamate-treated PC12 cells. BMC Complement Altern Med. 2017 Jan 21;17(1):69.
27. Cherrak SA, Mokhtari-Soulimane N, Berroukeche F, Bensenane B, Cherbonnel A, Merzouk H.et al. In Vitro Antioxidant versus Metal Ion Chelating Properties of Flavonoids: A Structure-Activity Investigation. PLoS One. 2016 Oct 27;11(10):e0165575.
28. Wang J, Hu D, Hou J, Li S, Wang W, Li J, Bai J. Ethyl Acetate Fraction of Hemerocallis citrina Baroni Decreases Tert-butyl Hydroperoxide-Induced Oxidative Stress Damage in BRL-3A Cells. Oxid Med Cell Longev. 2018 Nov 8;2018:1526125.
29. Que-Fei M, Lin-Chun Z, Xiao-Jie. In vitro and vivo antioxidant activities of daylily flowers and the involvement of phenolic compounds. Asia Pacific journal of clinical nutrition. 2007;16(S1):196-203.
30. Du B, Tang X, Liu F, Zhang C, Zhao G, Ren F. et al. Antidepressant-like effects of the hydroalcoholic extracts of Hemerocallis citrina and its potential active components. BMC Complement Altern Med. 2014 Sep 1;14:326.
31. Pan XK, Zhu WC, Cong L, Li MD, Jun LZ, Yong HL. et al. Antidepressant-like effects and cognitive enhancement of the total phenols extract of Hemerocallis citrina Baroni in chronic unpredictable mild stress rats and its related mechanism. Journal of Ethnopharmacology. 2016 Dec 24;194: 819-826.
32. Chao PY, Lin SY, Lin KH, Liu YF, Hsu JI, Yang CM. et al. Antioxidant activity in extracts of 27 indigenous Taiwanese vegetables. Nutrients. 2014 May 23;6(5):2115-30.

33. Wu WT, Mong MC, Yang YC, Wang ZH, Yin MC. Aqueous and Ethanol Extracts of Daylily Flower (Hemerocallis fulva L.) Protect HUVE Cells Against High Glucose. J Food Sci. 2018 May;83(5):1463-1469.
34. Mori S, Takizawa M, Satou M, Sakasai M, Kusuoku H, Nojiri H. el al. Enhancement of lipolytic responsiveness of adipocytes by novel plant extract in rat. E biology & medicine. 2014;234(12):1445-1449.
35. C. Loguercio and A. Federico. Oxidative stress in viral and alcoholic hepatitis. Free Radical Biology & Medicine. 2003;34(1):1–10.
36. Han JY, Cho SS, Yang JH et al. The chalcone compound isosalipurposide exerts a cytoprotective effect against oxidative injury via Nrf 2 activation. Toxicology and Applied Pharmacology. 2015;287(1):77–85.
37. Sarrais F, Castro Manglano. El insomnio. Anales del sistema sanitario de Navarra.2007;30:121-134.