

Caracterización fitoquímica de extractos de *Caléndula officinalis*

María Julia López Vallejos^a ; Laura B. Huber; Patricia Alejandra Vaculik 
Roque Oscar Rosende ; Laura Analía Lozina

Facultad de Odontología, Universidad Nacional del Nordeste, Av. Libertad 5450, W3400 Corrientes, Argentina.

^amjulialopez@hotmail.com

Fecha recepción: marzo 30 de 2022

Fecha aceptación: febrero 13 de 2023

Resumen

La *Caléndula officinalis* es una planta conocida por sus cualidades terapéuticas. Estudios farmacológicos realizados con extractos demostraron actividades antimicrobiana, antioxidante, antiinflamatoria, etc. La presencia de flavonoides y fenoles son responsables de estas actividades. El objetivo de este trabajo fue obtener extractos de *Caléndula officinalis* con diferentes solventes y determinar su caracterización fitoquímica. Los extractos de flores fueron sometidos a extracción por maceración simple con alcohol 96 °, metanol y mezcla hidroalcohólica, durante 24 h con agitación permanente. Se establecieron características organolépticas, fitoquímicas, actividad antioxidante mediante el índice de oxidación y determinación de los compuestos fenólicos por el método de Folin-Cicoaltea. Se realizaron mediciones de pH, análisis cromatográfico y marcha fitoquímica para evidenciar la presencia de metabolitos secundarios. El extracto hidroalcohólico presentó mejores características organolépticas, buen rendimiento y excelente índice de oxidación. La cuantificación de fenoles obtuvo buenos estándares en los tres extractos siendo superior el hidroalcohólico, los pH se presentaron en un rango de 6. La cromatografía determinó que los solventes de corridas fueron efectivos para la separación de compuestos, la referencia de fenoles y flavonoides utilizados como quercetina, rutina y ácido clorogénico fueron positivas. La marcha fitoquímica determinó la presencia de flavonoides, fenoles, alcaloides, glúcidos y antraquinonas en los metabolitos secundarios.

Palabras clave: Caracterización química; Productos naturales; Propiedades organolépticas.

Phytochemical characterization of *Calendula officinalis* extracts

Abstract

Calendula officinalis is a plant known for its therapeutic qualities, pharmacological studies carried out with extracts showed antimicrobial, antioxidant, anti-inflammatory activities, etc. The presence of flavonoides and phenols are responsible for these activities. The objective of this work was to obtain *Calendula officinalis* extracts with different solvents and determine their phytochemical characterization. Flower extracts were obtained and subjected to extraction by simple maceration with 96° alcohol, methanol and a hydroalcoholic solution, for 24 h with permanent stirring. Organoleptic and phytochemical characteristics, antioxidant activity were established by means of the Oxidation index and determination of phenolic compounds by the Folin-Cicoaltea method. PH measurements, chromatographic analysis and phytochemical analysis were carried out to show the presence of secondary metabolites. The hydroalcoholic extract presented better organoleptic characteristics, good performance and excellent oxidation index. The quantification of phenols obtained good standards in the three extracts, the hydroalcoholic being higher, the pHs were presented in a range of 6. The chromatography determined that the run solvents were effective for the separation of compounds, the reference of phenols and flavonoids used as quercetin, rutin, and chlorogenic acid were positive. The phytochemical march determined the presence of flavonoids, phenols, alkaloids, glycosides and anthraquinones in the secondary metabolites.

Keywords: *Chemical characterization; Natural products; Organoleptic properties.*

Caracterização fitoquímica de extratos de *Calendula officinalis*

Resumo

Calendula officinalis é uma planta conhecida por suas qualidades terapêuticas. Estudos farmacológicos realizados com extratos demonstraram atividades antimicrobiana, antioxidante, antiinflamatória, etc. A presença de flavonoides e fenóis são responsáveis por essas atividades. O objetivo deste trabalho foi obter extratos de *Calendula officinalis* com diferentes solventes e determinar sua caracterização fitoquímica. Extratos de flores foram obtidos e submetidos à extração por maceração simples com álcool 96°, metanol e mistura hidroalcoólica, por 24 h com agitação permanente. As características organolépticas, fitoquímicas e atividade antioxidante foram estabelecidas através do Índice de Oxidação e determinação dos compostos fenólicos pelo método de Folin-Cicoaltea. Medidas de pH, análises cromatográficas e análises fitoquímicas foram realizadas para mostrar a presença de metabólitos secundários. O extrato hidroalcoólico apresentou melhores características organolépticas, bom desempenho e excelente índice de oxidação. A quantificação dos fenóis obteve bons padrões nos três extratos, sendo o hidroalcoólico superior, os pHs se apresentaram na faixa de 6. A cromatografia determinou que os solventes corridos foram eficazes para a separação de compostos, a referência dos fenóis e flavonóides utilizados como quercetina, rutina e ácido clorogênico foram positivos. A marcha fitoquímica determinou a presença de flavonóides, fenóis, alcalóides, glicosídeos e antraquinonas nos metabólitos secundários.

Palavras-chave: *Caracterização química; Produtos naturais; Propriedades organolépticas.*

Introducción

La *Caléndula officinalis* es una planta reconocida por sus cualidades terapéuticas y diversos usos, la parte de la planta más empleada son los capítulos florales o pétalos. Entre los metabolitos secundarios que se han aislado se encuentran Triterpenos [1]; saponósidos [2]; aceites esenciales [3]; flavonoides, mono y oligosacáridos del quercetol; polisacáridos; carotenoides; esteroides; ácidos fenólicos y vitaminas [4].

Numerosas actividades terapéuticas han sido demostradas por distintas investigaciones entre las que se encuentran la acción antiinflamatoria, antioxidante; antimicrobiana; analgésica; inmunoestimulante; antitumoral; entre otras [5,6,7]. En los estudios farmacológicos realizados con extractos o fracciones a partir de las flores de *C. officinalis* se han detectado las mismas propiedades, los extractos acuosos de las flores de *C. officinalis* presentan las propiedades farmacológicas siguientes: cicatrizante, antiinflamatorio, antibacteriano y tranquilizante, lo cual hace de ésta una materia prima natural de interés para la industria farmacéutica que se informan en la medicina tradicional. Así tenemos que Fonseca [8] planteó que los extractos etanólicos al 80 % mostraron actividad antibacteriana especialmente contra *Staphylococcus aureus* y *S. fecalis*, Efstratiou, et al. [9] realizaron estudios en que se demostró la propiedad antiinflamatoria de extractos de *Caléndula*, Ghaima, et al. [10] demostraron el poder cicatrizante de los extractos de *C. officinalis* en animales de experimentación y en humanos y Pommier, et al. [11] plantearon el uso de extracto de polifenoles totales, el cual mostró un marcado efecto colágeno en ratas al ser administrado en dosis de 0,05 g/kg/d y también resultó beneficioso en el tratamiento de hepatitis inducida por tetracloruro de carbono.

Ensayos in vivo de un extracto metanólico de la caléndula y de una fracción butanólica han mostrado una acción hipoglucémica y gastroprotectora. Además, la fracción butanólica de la caléndula, rica en flavonoides y terpenoides, presenta una importante actividad antioxidante, que podría explicar las propiedades antiinflamatorias, bactericidas y antisépticas de este extracto [12].

Otros ensayos en los que se estudia su acción antiinflamatoria son los estudios a doble ciego realizados en niños que presentan otalgias asociadas a otitis medias, en los que se ha comparado el tratamiento con gotas de un

producto compuesto de extractos de varias plantas (*Caléndula Officinalis*, *Allium Sativum*, *Verbascum Thapsus*, *Lavender*, *Hypericum Perforatum*) con anestésicos en gotas convencionales con o sin amoxicilina. El porcentaje de reducción del dolor en el grupo tratado sólo con el extracto es mayor que los grupos tratados con antibióticos y/o anestésicos Friedman [13] ha estudiado la actividad bactericida de aceites esenciales derivados de caléndula contra *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* entérica observando que el aceite de caléndula ha mostrado una potente actividad anti-VIH in vitro sobre la transcripción del virus [14]. Un estudio muestra una acción antiedematosa de triterpenos derivados de la caléndula.

Materiales y métodos

Para la obtención de los extractos se utilizaron capítulos florales de Caléndula provistos por la empresa Diet Natural los que se enviaron al Instituto de Botánica del Nordeste, para su identificación. Las flores fueron reducidas a polvo y se eligieron tres solventes para la obtención de los extractos por el método de maceración simple por 24 h en agitación permanente. Se mezcló 10 g del polvo de flores con 100 mL de alcohol 96° para el extracto alcohólico (EAC), con 100 mL de metanol para el extracto metanólico (EMC) y con 100 mL de una mezcla hidroalcohólica (EHAC) de 70/30 de alcohol 96° y agua destilada para el extracto hidroalcohólico [15] los que luego fueron filtrados. Los residuos obtenidos de la filtración fueron colocados en estufa a 37 °C hasta su desecación completa y fueron pesados para su determinar residuos secos y peso seco. Para el rendimiento, los extractos fueron trasvasados cuantitativamente a un matraz aforado de 100 mL y se llevaron a volumen con el solvente de extracción. Se tomaron 50 mL y se colocaron en un balón de destilación previamente pesado, se evaporaron hasta sequedad y se pesaron para obtener el rendimiento. El volumen restante se colocó en frasco color caramelo, con tapa y con capacidad adecuada, protegido de la luz y refrigerado entre 4 a 10 °C para evitar la evaporación del solvente hasta las determinaciones posteriores.

Las características organolépticas de los extractos se basaron en pruebas sensoriales descriptivas [16], las cuales fueron realizadas por 5 personas con cierto adiestramiento que calificaron los atributos plasmados en una planilla. Para el olor se utilizó una escala de percepciones olfativas

utilizando los siguientes ítems: 1= Característico: pétalos de *Caléndula officinalis*, 2= Levemente modificada: Levemente a pétalos de *Caléndula officinalis* y 3= Modificada: olor al solvente extractivo. La determinación del color se realizó en base a una escala propia de colores ámbar a partir de parámetros establecidos en una escala tonal según intensidad en orden creciente: 1= ámbar claro translúcido, 2= ámbar claro más opaco, 3= ámbar con tintes amarillo verdoso, 4= ámbar con tintes rojizos y 5= ámbar oscuro. El sabor se basó en la siguiente escala de percepción: 1= dulce, 2= amargo, 3= picante y 4= insípido.

La actividad antioxidante de los extractos se midió mediante el índice de oxidación donde se tomaron 2 mL de los extractos y se mezclaron con 48 mL de agua destilada. A un tubo de ensayo, previamente tratado con una mezcla sulfocrómica, se agregaron 0,5 mL del diluido de los extractos, 0,5 mL de agua destilada y 1 mL de ácido sulfúrico al 20 %. El tubo se sometió a refrigeración en baño de hielo a 18 - 20 °C, luego se adicionaron 50 µL de una solución de KMnO_4 , estandarizada para oxalato de sodio. A continuación, se puso en marcha un cronómetro, que permitió estimar el tiempo en el cual la solución ácida de permanganato se reduce a iones manganeso (Mn^{2+}), lo cual se evidencia por la desaparición de color, la prueba se realizó por triplicado.

Para la determinación de los compuestos fenólicos se utilizó el método de Folin-Ciocalteu [17], con ácido gálico para la curva de calibración, y los resultados fueron expresados como mg de ácido gálico por g de *Caléndula*.

Para la medición del pH de los extractos se utilizó un pHmetro digital, a partir de la mezcla de 1 g del extracto blando en 10 mL de agua destilada, puesto a agitación continua hasta su completa disolución. Se sumergió el electrodo en la disolución teniendo precaución de que no roce con las paredes ni con el fondo del recipiente, se mantuvo durante 5 min para obtener la lectura y se obtuvo el valor por triplicado. En el análisis cromatográfico en placa de sílica gel 60 F254 Merck, se usó para la separación de los compuestos dos sistemas de corrida, en la primera se utilizó como fase móvil una mezcla de solventes constituida por acetato de etilo: ácido fórmico: ácido glacial acético: agua destilada (100:11:11:26) y la segunda con cloroformo: ácido glacial acético: metanol: agua destilada (60:32:12:8). Las placas se sembraron con 5 µL de los extractos y se colocaron en la cámara de corrida. Los componentes separados se visualizaron bajo luz UV 365 nM,

lámpara UV modelo SI-58Mineralight Lamp 20 y se revelaron con Vainillina sulfúrica. Como sistema de referencia se utilizó para el primer sistema 1 = Rutin ($R_f \sim 0,4$), Acido clorgénico ($R_f \sim 0,5$), Hyperosido ($R_f \sim 0,6$) y el segundo sistema narcisina [18].

En la marcha fitoquímica para la determinación de metabolitos secundarios se utilizó el Test de Dragendorff para alcaloides, la reacción con FeCl_3 para fenoles, la reacción de Libermann-Burchard para determinar esteroides o triptenos, reacción de Shinoda para flavonoides, Nihidrina 0,1 % en solución alcohólica para aminoácidos, el reactivo de Raymond – Marthoud para glucosidos cardiotónicos, el reactivo de Bornträger para antraquinonas y la reacción con gelatina NaCl para taninos.

Resultados

Los resultados de la caracterización organoléptica de los extractos de *Caléndula officinalis* con los diferentes solventes utilizados, entre ellos metanol, alcohol y mezclas hidroalcohólicas, se exponen en **Tabla 1**, donde también se encuentran los resultados de residuos secos, rendimiento, índice de oxidación, compuestos fenólicos y pH, observándose mayor extracción en el extracto metanólico (86 ml). El análisis sensorial permitió identificar las características organolépticas, respecto al aroma, en el extracto metanólicos hubo un predominio modificado al solvente percibido por 3 de los participantes, en el extracto alcohólico la opción elegida por todos los participantes fue de intensamente modificada, mientras que el extracto hidroalcohólico se presentó con características propias de las flores de *caléndula*. El sabor fue identificado en todas las muestras como amargo. En cuanto al color de los extractos, los resultados dan un color ámbar translúcido para el extracto alcohólico, ámbar con tintes amarillo verdoso para el extracto metanólicos y ámbar claro opaco para el extracto hidroalcohólico que se muestra en **Figura 1**. En la determinación de la actividad antioxidante por el índice de oxidación se pudo establecer diferencias mínimas en cuanto al tiempo cronometrado, evidenciando una capacidad oxidativa similar en los extractos. Los resultados de la cantidad total de polifenoles, donde los resultados muestran una mayor concentración de bioactivos son el EMC, seguido del EHAC y finalmente el EAC. El pH de las muestras estuvo en el rango ácido en todos los extractos. El valor obtenido para el EMC fue de $4 \pm 0,29$, para el EAC $4,30 \pm 0,22$ y en el caso del EHAC fue de $3,96 \pm 0,16$.

Tabla 1. Caracteres organolépticos de los extractos de *Caléndula Officinalis*: color, olor, sabor, rendimiento [%], índice de oxidación [seg.], compuestos fenólicos [mg/g] y pH. Los resultados representan de media de tres determinaciones y desvió estándar.

Características organolépticas	Extracto alcohólico de Caléndula	Extracto Hidroalcohólico de Caléndula	Extracto Metanólico
Color	Ámbar claro translúcido	Ámbar claro opaco	Ámbar claro con tintes verdosos
Olor	Levemente modificada	Característico a flores de Caléndula	Intensamente modificada
Sabor	Amargo	Amargo	Amargo
Rendimiento [%]	76	67	70
Índice de Oxidación [seg.]	29,33 ± 1,53	30,67 ± 1,53	33 ± 2,52
Compuestos fenólicos [mg/g]	18 ± 0,3	25 ± 0,2	27 ± 0,5
pH	4,30 ± 0,22	3,96 ± 0,16.	4 ± 0,29

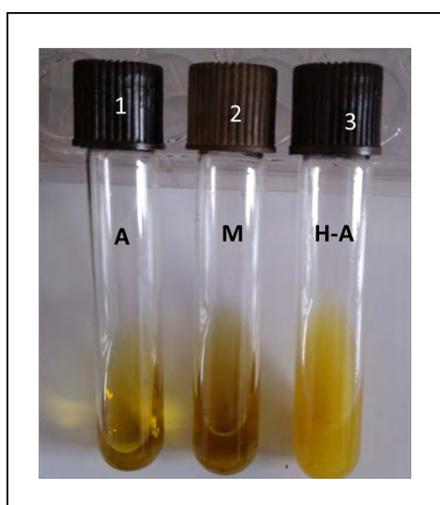


Figura 1. Color de los extractos en las muestras analizadas. **1.** Extracto alcohólico de Caléndula (EAC) **2.** Extracto metanólico de Caléndula (EMC) **3.** Extracto hidroalcohólico de Caléndula (EHAC).

En la **Figura 2 y 3** se observa el análisis fitoquímico realizado con placas de TLC para los EMC, EAC y EHAC. La separación de los componentes presentes en los extractos fue adecuada en los dos sistemas de corrida, observándose una serie de compuestos con diferentes polaridades, las bandas más intensas fueron encontradas en las zonas más apolares de la corrida. Teniendo en cuenta el sistema de referencias utilizado en el sistema 1 se observa la presencia de rutina (R_f 0,4) en los tres extractos, observándose una banda intensa en el extracto hidroalcohólico. Para el ácido clorogénico (R_f 0,5) se encuentran en los

tres extractos y para el Hyperósido (R_f 0,6) se encuentra en los tres extractos con una coloración más débil en las bandas. Para el segundo sistema de corrida se utilizó referencia la narcisina (R_f 0,4) observándose en los tres extractos con una coloración intensa en todas las bandas. Resumen de metabolitos identificado en la **Tabla 2**.

La presencia de metabolitos secundarios evidenciados a través de la marcha fitoquímica se expresa en la **Tabla 3** junto a su valoración cualitativa de cantidad presente.

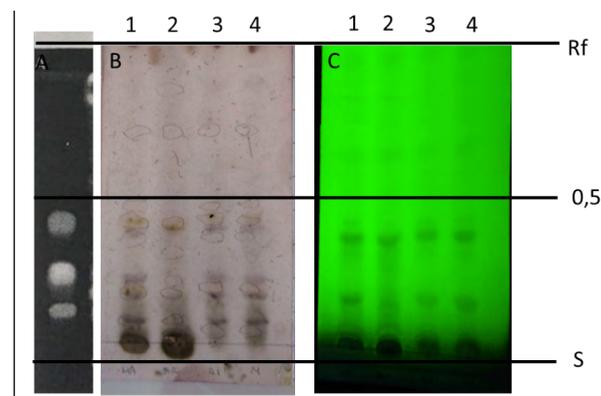


Figura 2. Cromatografía en placa fina de los extractos analizados. Solvente de corrida: acetato de etilo: ácido fórmico: ácido glacial acético: agua (100:11:11:206). Los compuestos separados visualizados con UV 365 nM, revelados con vainillina sulfúrica y sistema de referencia de R_f para rutina, ácido clorogénico e hiperósido. **A.** Sistema de referencia. **B.** Placa revelado con vainillina sulfúrica **C.** Visualización con UV. Los números indican el tipo de extracto **1.** EHAC (70/30) **2.** EHAC (50/50) **3.** EAC **4.** EMC.

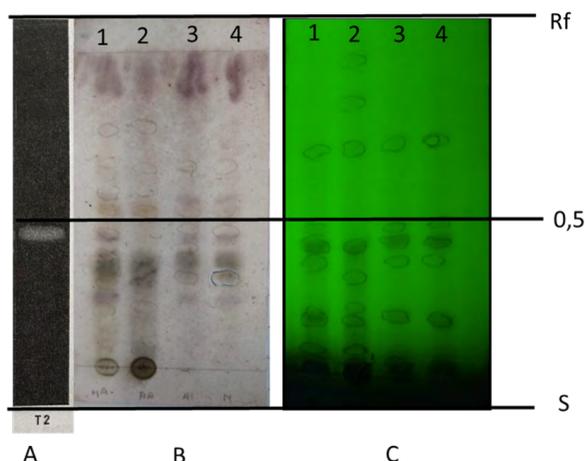


Figura 3. Cromatografía en placa fina de los extractos analizados. Solvente de corrida: cloroformo: ácido glacial acético: metanol: agua (60:32:12:8). Los compuestos separados visualizados con UV 365 nM, revelados con vainillina sulfúrica y sistema de referencia de R_f para narcisina **A**. Sistema de referencia. **B**. Placa revelado con vainillina sulfúrica **C**. Visualización con UV. Los números indican el tipo de extracto **1**. EHAC (70/30) **2**. EHAC (50/50) **3**. EAC **4**. EMC.

Tabla 2. Identificación de estándares con sus respectivos R_f coincidentes con el valor de los R_f de los compuestos presente en los tres extractos y la valoración cualitativa de la intensidad de la banda expresado en +.

Fitoquímica	Rutina	Ac. clorogénico	Hyperósido	Narcisina
R_f	0,4	0,5	0,6	0,4
Alcohólico	++	++	+	+++
Metanólico	+++	+++	+	+++
Hidroalcohólico	+++	++	++	+++

Tabla 3. Marcha Fitoquímica obtenida por reacción con diferentes reactivos para metabolitos secundarios presente en los extractos. Calificación cualitativa con relación a la intensidad de coloración expresada en +.

Compuesto analizado	Metanólico	Alcohólico	Hidroalcohólico
Flavonoides	++	++	+++
Tanino	+	-	-
Esteroides y Triterpenos	dudoso	-	-
Antraquinonas	+	+	+
Alcaloides	+	+	++
Glucósidos Cardiotónicos	+	+	+
Fenoles	+++	++	+++
Aminoácidos	+	+	+

Discusión

La caracterización organoléptica y fitoquímica de los extractos de *Caléndula Officinalis* fueron analizados en este trabajo utilizando diferentes solventes, entre ellos metanol, alcohol y mezclas hidroalcohólicas. En cuanto a la coloración se

mostraron dentro de la gama de los tonos ámbar: ámbar translúcido para el extracto alcohólico, ámbar claro con tintes verdosos para el metanólico y ámbar claro opaco para el hidroalcohólico. El olor fue levemente modificado al solvente para el extracto alcohólico, intensamente modificado para el metanólico y característico a flores de caléndula

para el hidroalcohólico. El sabor se mantuvo amargo en los tres extractos. Didem Sahingil [19] determinó la presencia de compuestos volátiles en las flores de caléndula al que le atribuye el olor característico de los extractos. Mora Anchatuña [20] presentó un trabajo que determinó algunos parámetros para los extractos hidroalcohólicos de caléndula, estableciendo el color como amarillo transparente, el olor propio a la hierba de caléndula y pH de 6,3; además del tamizaje fitoquímico siendo positivo para alcaloides, flavonoides y taninos y negativo para cumarinas, glúcidos y saponinas. Los valores del rendimiento encontrado fueron superiores al 50 % en todas las muestras, mostrando un mayor rendimiento el extracto alcohólico. Los atributos que se encuentran compartidos en estos trabajos evalúan una relación con el contenido de bioactivos presente en los extractos.

El comportamiento oxidativo de los extractos mostró características típicas de presencia de compuestos antioxidantes en los extractos con tiempos cronometrados ideales para cada una de las muestras. Se recurre usualmente a la determinación de polifenoles por el método de Folin Ciocalteu para evaluar la cantidad de este metabolito en los extractos, en este trabajo la mayor extracción se vió en el hidroalcohólico, datos se ponen de manifiesto en otros estudios como el de Bragueto Escher [21] que comparó diferentes extractos y mostró que el extracto hidroalcohólico (50:50 v/v) presentó el mayor contenido fenólico total, flavonoides y actividad antioxidante. El mayor contenido de fenoles totales expresados en mg de ácido gálico/mL, correspondió al extracto hidralcohólico (5,98 mg) [16]. En otras formulaciones [22] realizadas con extractos de CO a un pH por debajo de 5,5, coincidiendo con el pH de la materia prima empleada para la elaboración de las jaleas que va de 4,5 a 5,5, en todos los casos este valor de pH ligeramente ácido es debido a la presencia de saponinas triterpénicas, flavonoides, ácidos fenólicos, taninos y otros, que por sus características estructurales aportan acidez a la formulación.

El perfil cromatográfico permite diferenciar en forma rápida el perfil fitoquímico de los extractos y son de gran utilidad para la caracterización cualitativa de las muestras, en este trabajo la utilización de dos cámaras de corrida permitieron visualizar una gran variedad de compuestos presentes en toda la corrida de la placa y la comparación de patrones de rutina, hyperósido ácido clorogénico y narcisina fueron positivos en los extractos evaluado. La

presencia de estos metabolitos, en su mayoría fenoles y flavonoides, podrían ser utilizados para la terapéutica farmacológica, sin embargo, el mayor inconveniente es la variabilidad en su composición química y esto repercute en su actividad biológica que está en estrecha relación con la cuantificación de los mismos dentro del extracto.

La caracterización fitoquímica de metabolitos secundarios presentes en los extractos evidenció una gran variabilidad de compuestos, encontrando esteroides, flavonoides, fenoles y alcaloides, entre otros [23]. Estos metabolitos coinciden con lo reportado en otros trabajos realizados que muestran la presencia de metabolitos secundarios en extractos hidroalcohólicos de caléndula obteniendo valores positivos a flavonoides, saponinas, taninos, cumarinas, triterpenos, alcaloides y quinonas [24].

Fitoquímicos también importantes fueron reportados [25] y han revelado la presencia de diferentes compuestos químicos que incluyen carbohidratos, aminoácidos, lípidos, carotenoides, terpenoides, flavonoides, aceite volátil, quininas, cumarinas y otros componentes. Estudios realizados en la India [26], reportaron diferentes compuestos fitoquímicos: caroteno, pigmentos, alcoholes triterpénicos libres y esterificados y ácidos grasos poliinsaturados, como el ácido caléndico, glucósidos de calendulina y ácido oleanólico, α - y β mirina, calenduladiol, coflodiol y manilladiol, y concluyeron que la cantidad y calidad de los compuestos encontrados varían con el suelo composición, madurez de la planta y tiempo de recolección. Otros compuestos en el extracto incluyen proteínas, aminoácidos, hidrocarburos saturados [27,28], vitamina C [29] y sustancias minerales [30]. Además, se reportó presencia de flavonoides principalmente isorhamnetina y quercetina. Las flores contienen compuestos de flavonol farmacológicamente activos como flavoxantina, luteoxantina, licopeno, auroxantina, luteína, β -caroteno, etc. [31], el análisis de extracto hidroalcohólico [32] demuestra la conformación de una mezcla de compuestos presentes en los extractos como biocompuestos activos, se evidencia la presencia de taninos, carotenoides y compuestos fenólicos, entre otros. En otros estudios se expresaron valores cuali y cuantitativos de fenoles totales y flavonoides, revelando la presencia de un contenido de 9,65 a 11,31 mg AG/0,1 g y 1,51 a 2,17 mg Q/0,1 g de fenoles y flavonoides, respectivamente [33].

Conclusiones

1. Los extractos obtenidos por maceración simple de capítulos florales de *Caléndula officinalis* utilizados en este trabajo permitieron establecer la presencia de fitometabolitos mediante un análisis cualitativo fitoquímico, donde fueron identificados flavonoides, taninos, triterpenos, alcaloides, carotenoides y fenoles.
2. La caracterización organoléptica permitió interpretar los resultados obtenidos en cada extracto, dejando al extracto metanólico con mejor performance en cuanto a su contenido de fenoles, bioactivo relacionado con la actividad antioxidante, coincidiendo dicho resultado con la mejor respuesta en el índice de oxidación.
3. En cuanto a las placas de TLC, las fórmulas de corrida fueron eficaces para la separación de los compuestos, la identificación de fenoles con patrones de ácido clorogénico (Rf 0,5) se encontraron en los 3 extractos así como el patrón Hyperósido (Rf 0,6) para la identificación de flavonoides.

Bibliografía

- [1] Lastra Valdés H, Piquet García R. *Caléndula officinalis*. Rev Cubana Farm. 1999;33(3):188-94. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/far/v33n3/far07399.pdf>
- [2] Avramova S, Portarska R, Apostolova S. Source of new products for the cosmetic industry. Med Biol Inform. 1988;4:24-6.
- [3] Graeza L, Szasz K. Examination of active agents of petal of marigold (*Calendula officinalis* L). Acta Pharm Hung. 1968;38(2):118-25.
- [4] Akihisa T, Yasukawa K, Oinuma H. Triterpene alcohols from the flowers of compositae and their anti-inflammatory effects. Phytochemistry. 1996;43(6):1255-60. [doi.org/10.1016/S0031-9422\(96\)00343-3](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(96)00343-3)
- [5] Nuñez Figueredo Y, Muñoz Alarcón C, Agüero Fernández S, Muñoz Cernuda A. Efecto Antiinflamatorio preclínico del polvo Seco de *Caléndula Officinalis*. Lat. Am. J. Pharm. 2007;26(4):548-52.
- [6] Hernández-Rosas NA, García-Zebadúa JC, Hernández-Delgado N, Torres-Castillo S, Figueroa-Arredondo P, Mora-Escobedo R. Polyphenols profile, antioxidant capacity, and *in vitro* cytotoxic effect on human cancer cell lines of a hydroalcoholic extract from *Calendula officinalis* L. petals. TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas. 2018;21(Supl. 1):54-64. doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2018.0.150
- [7] Jyotisree G, Sruthi R, Biju CR, Menon AS. *Calendula officinalis* and *Echinacae purpureae* as antimicrobial agent. Journal of Applied Pharmaceutical Research. 2020;8(2):08-12.
- [8] Fonseca YM, Catini CD, Vicentini FTMC, Nomizo A, Gerlach RF, Vieira Fonseca MJ. Protective effect of *Calendula Officinalis* extract against UVB-induced Oxidative stress in skin: Evaluation of reduced glutathione levels and matrix metalloproteinase secretion. Journal of Ethnopharmacology. 2010;127(3):596-601. doi.org/10.1016/j.jep.2009.12.019
- [9] Efstratius E, Hussain AI, Nigam PS, Moore JE, Ayub MA, Rao JR. Antimicrobial activity of *Calendula officinalis* petal extracts against fungi, as well as Gram-negative and Gram-positive clinical pathogens. Complementary Therapies in Clinical Practice. 2012;18(3):173-176. doi.org/10.1016/j.ctcp.2012.02.003
- [10] Ghaima KK, Rasheed SF, Ahmed EF. Antibiofilm, antibacterial and antioxidant activities of water extract of *Calendula officinalis* flowers. International Journal of Biological and Pharmaceutical Research. 2013;4(7):465-470.
- [11] Pommier P, Gómez F, Sunyach MP, Hombres A, Carrie C, Montbarbon X. Phase III Randomized Trial of *Calendula officinalis* Compared with Trolamine for the Prevention of Acute Dermatitis During Irradiation for Breast Cancer. J. Clin. Oncol. 2004;22:1447-1453. doi.org/10.1200/JCO.2004.07.063
- [12] Torres GM, Sarmiento OI, Ramírez RI, Guevara O. Estimación del contenido de fenoles totales en aceite esencial de *Caléndula (Calendula officinalis* L) obtenido mediante OAH. Rev. ion. 2018;31(1):7-12. doi.org/10.18273/revion.v31n1-2018001
- [13] Fridman JS, Lowe SW. Control of apoptosis by p53. Oncogene. 2003;22(56):9030-9040. doi.org/10.1038/sj.onc.1207116
- [14] Kalvatchev Z, Walder R, Garzaro D. Anti-HIV activity of extracts from *Calendula Officinalis* flowers. Biomed. Pharmacother. 1997;51(4):176-180. [doi.org/10.1016/S0753-3322\(97\)85587-4](https://doi.org/10.1016/S0753-3322(97)85587-4)
- [15] Castaño García MT, Ruíz Rubio L, Vidal Aliaga JL. Monografías Farmacéuticas. 2 ed. España: Colegio Oficial de Farmacéuticos de

- la Provincia de Alicante; 1998.
- [16] Amaguaña Rojas FJ, Churuchumbi Rojas EF. Estandarización fitoquímica del extracto de caléndula (*Calendula officinalis*) (Tesis de grado). Quito, Ecuador: Universidad Politécnica Salesiana; 2018. Disponible en: <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/16149>
- [17] Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. En: Methods in Enzymology. Academic press. Vol. 299. 1999. p. 152-178. [doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
- [18] Wagner H, Bladt S. Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas. 2 ed. Springer Science & Business Media; 1996. doi.org/10.1007/978-3-642-00574-9
- [19] Sahingil D. GC/MS-Olfactometric Characterization of the Volatile Compounds, Determination Antimicrobial and Antioxidant Activity of Essential Oil from Flowers of Calendula (*Calendula officinalis* L). Journal of Essential Oil Bearing Plants. 2019;22(6):1571-1580. doi.org/10.1080/0972060X.2019.1703829
- [20] Mora Anchatuña LE. Formulación de un gel cosmecéutico antiacné a base de extracto de flores de caléndula (*Caléndula officinalis*) y propóleo (Tesis de grado). Riobamba, Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2014.
- [21] Bragueto Escher G, Cardoso Borges LDC, Sousa Santos J, Mendanha Cruz T, Boscacci Marques M, Vieira do Carmo MA, et al. From the Field to the Pot: Phytochemical and Functional Analyses of *Calendula officinalis* L. Flower for Incorporation in an Organic Yogurt. Antioxidants. 2019;8(11):559. doi.org/10.3390/antiox8110559
- [22] Arias-Ramos D, Cancañon-Cadiz J, Chil Núñez I, Escalona Arranz JC, Cañada Rodríguez A. Caracterización de una jalea de *Calendula officinalis* L. al 1% para uso estomatológico. Ars Pharm. 2018;59(4):201-6. dx.doi.org/10.30827/ars.v59i4.7462
- [23] Rodríguez Cepeda R, Alvarez Suarez NY. Actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de *Calendula officinalis* L. Rev. ion. 2021;34(1):97-110. doi.org/10.18273/revion.v34n1-2021008
- [24] Silva D, Ferreira MS, Sousa-Lobo JM, Cruz MT, Almeida IF. Anti-Inflammatory Activity of *Calendula officinalis* L. Flower Extract. Cosmetics. 2021;8(2):31. doi.org/10.3390/cosmetics8020031
- [25] Jan N, Andrabi KI, Riffat J. *Calendula officinalis*: An important medicinal plant with potential biological properties. Proc. Indian Natl. Sci. Acad. 2017;83(4):769-787. doi.org/10.16943/ptinsa/2017/49126
- [26] Verma PK, Raina R, Sultana M, Singh M, Kumar P. Total antioxidant and oxidant status of plasma and renal tissue of cisplatin-induced nephrotoxic rats: protection by floral extracts of *Calendula officinalis* Linn. Renal failure. 2016;38(1):142-150. doi.org/10.3109/0886022X.2015.1103585
- [27] Vidal-ollivier E, Elias R, Faure F, Babadiamian A, Crespin F, Balansard G, et al. Flavonol glycosides from *Calendula officinalis* flowers. Planta Med. 1989;55(1):73-4. doi.org/10.1055/s-2006-961831
- [28] Muley BP, Khadabadi SS, Banarase NB. Phytochemical constituents and pharmacological activities of *Calendula officinalis* Linn (Asteraceae): A Review. Tropical J Pharm Res. 2009;8:455-65. doi.org/10.4314/tjpr.v8i5.48090
- [29] Silva EJR, Gonçalves ES, Aguiar F, Evencio LB, Lyra MMA, Coelno MCO, et al. Toxicological studies on hydroalcohol extract of *Calendula officinalis* L. Phytother Res. 2007;21(4):332-6. doi.org/10.1002/ptr.2009
- [30] Naguib NY, Khalil MY, El Sherbeny SE. A Comparative study on the productivity and chemical constituents of various sources and species of calendula plants as affected by two foliar fertilizers. J Applied Sci Res. 2005;1(2):176-89.
- [31] Kishimoto S, Maoka T, Sumitomo K, Ohmiya A. Analysis of carotenoid composition in petals of calendula (*Calendula officinalis* L). Biosci Biotechnol Biochem. 2005;69(11):2122-8. doi.org/10.1271/bbb.69.2122
- [32] Rodríguez Cepeda R, Álvarez Suárez NY. Actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de *Calendula officinalis* L. Rev. ion. 2021;34(1):97-110. doi.org/10.18273/revion.v34n1-2021008
- [33] Montané Ojeda C, Arias Ramos D, Chil Núñez I. Cuantificación de fenoles y flavonoides totales en un extracto blando de flores de *Calendula officinalis* Linn. Orange Journal. 2021;2(3):20-31. doi.org/10.46502/issn.2710-995X/2020.3.02