



**Caracterización química y validación del método analítico UPLC-DAD para cuantificación de flavonoides del extracto de flores de *Kalanchoe pinnata* (Lam) Persoon**

**Chemical characterization and validation of the UPLC-DAD analytical method for the quantification of flavonoids from the flower extract of *Kalanchoe pinnata* (Lam) Persoon**

Wilson Leonardo Villarreal Romero,<sup>1</sup> Jorge Robles Camargo,<sup>2</sup> Geison Modesti Costa.<sup>3</sup>

Grupo de Investigación en Fitoquímica. Departamento de Química. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana

1. Estudiante de Doctorado en Ciencias Biológicas. MSc. Departamento de Química, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá D.C. [wvillarreal@javeriana.edu.co](mailto:wvillarreal@javeriana.edu.co)
2. Profesor titular. MSc, Ph.D. Departamento de Química, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá D.C.
3. Profesor Asociado. MSc, Ph.D. Departamento de Química, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá D.C.

Presentación Oral Virtual 13

**ABSTRACT**

*Kalanchoe pinnata* is a plant of great medicinal importance, widely used in traditional medicine in Latin America and southern Africa, where its leaves and flowers are used as an antimicrobial and febrifuge, among others<sup>1</sup>. Antinociceptive, anti-inflammatory and cytotoxic activities have been reported for this species from its flowers, activities that have been related to its flavonoid content<sup>2,3</sup>. However, this species is not yet known chemically or biologically in depth. Therefore, this study aimed to advance phytochemical knowledge and standardization of flower extract. The extracts were obtained by infusion of dried flowers, from 3 different collections. Chromatographic analyzes were performed by HPTLC, UPLC-DAD and UHPLC-MS-QTOF. The quantification of total flavonoids was completed by UPLC-DAD, using Rutin as an external standard, after validation of the method according to the parameters established by the ICH4. Subsequently, extract stability tests were carried out under different stress conditions, determining the percentage of total flavonoid degradation. As results, chromatographic profiles were obtained that allowed the identification of 13



# Revista Productos Naturales

## ISSN 1916-2413



### XIV Congreso Colombiano de Fitoquímica

Julio 27, 2022, 5(2):108-110

Disponible en línea en

<https://nozomiscience.org/index.php/rpn/article/view/6829/version/7587>

doi: <https://doi.org/10.3407/rpn.v5i2.6829>



glycosylated flavonoids, the most abundant being quercetin 3-O- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl (1-2)  $\alpha$ -L-rhamnopyranoside. The UPLC-DAD analytical method was validated for the quantification of total flavonoids, determining as linear, precise and exact. The mean content of total flavonoids was  $0.102 \pm 0.004$  mg EQ-Rutin/mg of extract. Finally, it was determined that the extract is stable against hydrolysis conditions by reflux in water, very labile against acid and basic stress, and practically stable under oxidative stress.

#### Key words:

UPLC, flavonoids, CPC, stability, validation

#### RESUMEN

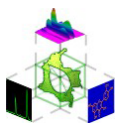
*Kalanchoe pinnata*, es una planta de gran importancia medicinal, ampliamente utilizada, en la medicina tradicional de América Latina y el sur de África, donde sus hojas y flores se utilizan como antimicrobiano y febrífugo, entre otros<sup>1</sup>. A esta especie se le han reportado actividades antinociceptivas, antiinflamatorias y citotóxicas a partir de sus flores, actividades que han sido relacionadas con su contenido de flavonoides<sup>2,3</sup>. Sin embargo, esta especie no se conoce aún ni química ni biológicamente a profundidad. Por lo tanto, este estudio tuvo como objetivo avanzar en el conocimiento fitoquímico y la estandarización del extracto de flores. Los extractos se obtuvieron por infusión de flores secas, de 3 colectas diferentes. Se realizaron análisis cromatográficos por HPTLC, UPLC-DAD y UHPLC-MS-QTOF. La cuantificación de flavonoides totales, fue completada por UPLC-DAD, utilizando, como patrón externo la Rutina, previa validación del método de acuerdo, con los parámetros establecidos por la ICH4. Posteriormente, se realizaron pruebas de estabilidad del extracto bajo diferentes condiciones de estrés, determinando, el porcentaje de degradación de los flavonoides totales. Como resultados se obtuvieron perfiles cromatográficos que permitieron identificar 13 flavonoides glicosilados, siendo el más abundante la quercetina 3-O- $\alpha$ -L-arabinopiranosil (1-2)  $\alpha$ -L-rhamnopyranósido. El método analítico UPLC-DAD fue validado para la cuantificación de flavonoides totales determinándose como lineal, preciso y exacto. El contenido medio de flavonoides totales, fue de  $0,102 \pm 0,004$  mg EQ-Rutina/mg de extracto. Finalmente se determinó que el extracto es estable frente a condiciones de hidrólisis por reflujo en agua, muy lábil frente a estrés ácido y básico, y prácticamente estable bajo estrés oxidativo.

#### Palabras clave:

UPLC, flavonoides, CPC, estabilidad, validación

#### Agradecimientos/Acknowledgements

The authors would like to thank Pontificia Universidad Javeriana for its support and the Colombian Environmental Ministry for allowing the use of genetic resources and products derived (Contract number 212/2018; Resolution 210/2020). And for the financing of this research to the MINCIENCIAS for the financing



# Revista Productos Naturales

ISSN 1916-2413



## XIV Congreso Colombiano de Fitoquímica

Julio 27, 2022, 5(2):108-110

Disponible en línea en

<https://nozomiscience.org/index.php/rpn/article/view/6829/version/7587>

doi: <https://doi.org/10.3407/rpn.v5i2.6829>



of I+D+i programs (number 792-2017), the World Bank and Vicerrectoría de Investigaciones, Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia (contract No FP 44842 221 2018).

### Referencias/References

1. Ghasi S et al. (2011). Assessment of the medical benefit in the folkloric use of Bryophyllum Pinnatum leaf among the Igbos of Nigeria for the treatment of hypertension Afr. J. Pharmacy Pharmacol. 5(1):83-92.
2. Coutinho MA, et al. (2012). Flowers from Kalanchoe pinnata are a Rich Source of T Cell Suppressive Flavonoids. Nat. Prod. Commun, 7(2):175-178.
3. Ferreira RT, et al (2014). Mechanisms underlying the antinociceptive, antiedematogenic and antiinflammatory activity of the main flavonoid from Kalanchoe pinnata J Evid Based Altern Med
4. International Conference on Harmonization (ICH). (2005). Validation of analytical procedures: text and methodology Q2(R1). Geneva: ICH.