



## Anti *Propionibacterium acnes* Activity, HPLC Method Validation for Simultaneous Analysis and Extraction of Coumarins from the Fern *Cyclosorus terminans*

Suriya CHAIWONG<sup>1</sup>, Panupong PUTTARAK<sup>1,2</sup> & Sireewan KAEWSUWAN<sup>1,2</sup> \*

<sup>1</sup> Department of Pharmacognosy and Pharmaceutical Botany,  
<sup>2</sup> Phytomedicine and Pharmaceutical Biotechnology Excellence Center,  
Faculty of Pharmaceutical Sciences, Prince of Songkla University, Songkhla 90112, Thailand

**SUMMARY.** Interruptin A effectively inhibited and killed *Propionibacterium acnes* with MIC and MBC of 1.95/7.81  $\mu\text{g/mL}$ , whereas interruptins B and C were not active. The high performance liquid chromatography with a photo diode array detector was validated for simultaneous analysis of interruptins A, B and C. The HPLC condition was achieved by using a reverse-phase C18 analytical column, methanol/1% aqueous acetic acid (85:15, v/v) and 1 mL/min flow rate. According to the International Conference of Harmonization (ICH) guidelines, the method was validated on the basis of these parameters: linearity ( $R^2 \geq 0.999$ ), range (typically 6.25-200  $\mu\text{g/mL}$ ), specificity, accuracy ( $100 \pm 10\%$ ), precision (intra-day  $<1\%$ , inter-day  $<2\%$ ), limit of detection (LOD) and limit of quantitation (LOQ). Ethyl acetate combined with maceration or microwave-assisted extraction was used as a suitable method for extraction of interruptins. This model is suitable as a standard method for simultaneous examination of interruptins A, B and C in a single HPLC run.

**RESUMEN.** Interruptin A inhibió eficazmente y mató *Propionibacterium acnes* con MIC y MBC de 1.95/7.81  $\mu\text{g/mL}$ , mientras que las interruptinas B y C no estaban activas. La cromatografía líquida de alta resolución con un detector de diodo fotoeléctrico fue validada para el análisis simultáneo de interruptinas A, B y C. La condición de HPLC se logró mediante el uso de una columna analítica C18 de fase inversa, metanol ácido acético acuoso al 1% (85:15, v/v) y velocidad de flujo de 1 mL/min. De acuerdo con las directrices de la Conferencia Internacional de Armonización (ICH), el método fue validado sobre la base de estos parámetros: linealidad ( $R^2 \geq 0.999$ ), rango (típicamente 6.25-200  $\mu\text{g/mL}$ ), especificidad, precisión ( $100 \pm 10\%$ ), precisión (intradía  $<1\%$ , interdía  $<2\%$ ), límite de detección (LOD) y límite de cuantificación (LOQ). El acetato de etilo combinado con maceración o extracción asistida por microondas se utilizó como un método adecuado para la extracción de interruptinas. Este modelo es adecuado como un método estándar para el examen simultáneo de interruptinas A, B y C en una sola ejecución de HPLC.

**KEY WORDS:** coumarins, *Cyclosorus terminans*, high performance liquid chromatography, interruptin, method validation.

\* Author to whom correspondence should be addressed. E-mail: suriya\_chaiwong@hotmail.com, songsri.k@psu.ac.th