

## Microwell Spectrophotometric Method with High-throughput for Determination of the Macrolide Antibiotics in their Pharmaceutical Formulations

Ibrahim A. DARWISH\*, Tanveer A. WANI, Nasr Y. KHALIL & Abdel-Rahman A. AL-MAJED

*Department of Pharmaceutical Chemistry, College of Pharmacy,  
King Saud University, P.O. Box 2457, Riyadh 11451, Saudi Arabia.*

**SUMMARY.** The present study describes the development of a microwell spectrophotometric method with high throughput for determination of macrolide antibiotics; erythromycin (ERM) and josamycin (JOS) were used as representative examples. The method employed the charge-transfer (CT) reaction between each of ERM and JOS (as electron donors) and 2,3-dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone (DDQ) as a  $\pi$ -electron acceptor. The proposed method employed 96-microwell assay plates for carrying out the reaction and the color signals were measured at 450 nm by microwell-plate reader. The optimum conditions for the proposed method were established. Under these conditions, Beer's law was obeyed in the concentration ranges of 10-160 and 10-100  $\mu\text{g}/\text{well}$  for ERM and JOS, respectively. The limits of detection and quantitation were 4.6 and 13.8  $\mu\text{g}/\text{well}$  for ERM and 3.41 and 11.36  $\mu\text{g}/\text{well}$  for JOS, respectively. The precisions of the method were satisfactory; the values of relative standard deviations did not exceed 2%. The proposed method was successfully applied to the analysis of pharmaceutical formulations of ERM and JOS with good accuracy and precision. The results of the proposed method were compared favorably with those of reference methods. The method described herein is of great practical value in pharmaceutical analysis of macrolide antibiotics because it offers a high analytical throughput and consumes minimum volumes of organic solvents. Therefore, it decreases the exposures of the analysts to the toxic effects of organic solvents and reduces the analysis cost. Although the method was validated for ERM and JOS, the same methodology could be used for any macrolide antibiotic as all of the members have electron-donating capability and thus can exhibit CT reaction.

**RESUMEN.** El presente estudio describe el desarrollo de un método espectrofotométrico en micropocillos con un alto rendimiento para la determinación de los antibióticos macrólidos, donde eritromicina (ERM) y josamicina (JOS) fueron utilizados como ejemplos representativos. El método emplea la reacción de transferencia de carga (CT) entre ERM y JOS (como donadores de electrones) y 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona (DDQ) como aceptor de electrones  $\pi$ . El método propuesto emplea placas de ensayo de 96 micropocillos para llevar a cabo la reacción y la intensidad del color se midió a 450 nm mediante un lector de placa de micropocillos. Se establecieron las condiciones óptimas para el método propuesto, en base a las cuales la ley de Beer fue obedecida en los intervalos de concentración de 10 a 160 y de 10 a 100  $\mu\text{g}/\text{pocillo}$  para ERM y JOS, respectivamente. Los límites de detección y cuantificación fueron 4,6 y 13,8  $\mu\text{g}/\text{pocillo}$  para ERM y 3,41 y 11,36  $\mu\text{g}/\text{pocillo}$  para JOS, respectivamente. Las precisiones del método fueron satisfactorias y los valores de las desviaciones estándar relativas no superaron el 2%. El método propuesto se aplicó con éxito para el análisis de las formulaciones farmacéuticas de ERM y JOS con aceptable exactitud y precisión. Los resultados del método propuesto se compararon favorablemente con los de los métodos de referencia. El método descrito en este documento es de gran valor práctico en el análisis farmacéutico de antibióticos macrólidos, ya que ofrece un alto rendimiento analítico y consume volúmenes mínimos de disolventes orgánicos. Por lo tanto se reduce la exposición de los analistas a los efectos tóxicos de disolventes orgánicos y el costo del análisis. Aunque el método fue validado para el ERM y JOS, la misma metodología podría ser utilizada para cualquier antibiótico macrólido, ya que todos los miembros tienen la capacidad de ser donadores de electrones y por lo tanto puede exhibir reacción de CT.

**KEY WORDS:** Charge-transfer, Erythromycin, High throughput analysis, Josamycin, Macrolide antibiotics, Microwell method, Spectrophotometry.

\* Author to whom correspondence should be addressed. E-mail: idarwish@ksu.edu.sa