



## Novel 96-Microwell-Based Spectrophotometric Assay With High-Throughput For Pharmaceutical Quality Control Of Reboxetine

Ibrahim A. DARWISH\*, Tanveer A. WANI, Mohammed H. ALTEMANI

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

**SUMMARY.** This study describes the development and validation of a novel 96-microwell-based spectrophotometric assay with high-throughput for pharmaceutical quality control of reboxetine (RBX), the new antidepressant drug. The reaction between RBX and 1,2-naphthoquinone-4-sulphonate (NQS) as a chromogenic reagent was investigated. In alkaline medium (pH 8.5), a red-colored product exhibiting maximum absorption peak ( $\lambda_{\max}$ ) at 468 nm was produced. The stoichiometry of the reaction was determined and the reaction mechanism was postulated. This color-developing reaction was employed, for the first time, in the development of the proposed assay. The assay reaction was carried out in 96-microwell assay plate and the absorbance of the colored-product was measured by microwell plate reader at 450 nm. The optimized reaction conditions were established; under which, Beer's law was obeyed in the range of 40-600  $\mu\text{g/mL}$  with good correlation coefficient (0.9992). The limits of detection and quantification were 11.5 and 38.2  $\mu\text{g/mL}$ , respectively. The assay showed high precision as the values of relative standard deviations (RSD) did not exceed 2%. No interference was observed from the excipients that are present in RBX-containing tablets. The proposed assay was applied successfully for the determination of RBX in its tablets with good accuracy and precisions; the label claim percentage was  $102.81 \pm 1.43\%$ . The results were compared favorably with those of a reference method. The results demonstrated that the proposed assay has great practical value in routine application for determination of RBX in pharmaceutical quality control laboratories.

**RESUMEN.** Este estudio describe el desarrollo y validación de un novedoso ensayo espectrofotométrico de 96 pocillos con alto rendimiento para el control de calidad farmacéutica de reboxetina (RBX), el nuevo fármaco antidepresivo. Se investigó la reacción entre RBX y 1,2-naftoquinona-4-sulfonato (NQS) como reactivo cromogénico. En medio alcalino (pH 8,5) se produce un producto de color rojo que exhibe el pico máximo de absorción ( $\lambda_{\max}$ ) a 468 nm. Se determinó la estequiometría y se postula el mecanismo de la reacción. Esta reacción se utiliza por primera vez en el ensayo propuesto. La reacción se llevó a cabo en placa de 96 micropocillos y la absorbancia del producto de color se midió mediante un lector de microplacas a 450 nm. Se establecieron las condiciones de reacción optimizadas, dentro de las cuales la ley de Beer fue obedecida en el rango de 40-600 mg/mL con un buen coeficiente de correlación (0.9992). Los límites de detección y cuantificación fueron 11.5 y 38.2 g/ml, respectivamente. El ensayo mostró una alta precisión, ya que los valores de las desviaciones estándar relativas (RSD) no superaron el 2%. No se observó ninguna interferencia de los excipientes que están presentes en los comprimidos que contienen RBX. El ensayo propuesto se aplicó con éxito para la determinación de RBX en tabletas con buena seguridad y precisión; el porcentaje indicado en la etiqueta fue de  $102,81 \pm 1,43\%$ . Los resultados se compararon favorablemente con los de un método de referencia y demostraron que el ensayo propuesto tiene gran valor práctico en la aplicación rutinaria para la determinación de RBX en laboratorios farmacéuticos de control de calidad.

**KEY WORDS:** High-throughput, 96-microwell-based assay, 1,2-naphthoquinone-4-sulphonate, Pharmaceutical analysis, Reboxetine, Spectrophotometry.

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