

## Validated Stability Indicating HPLC and UFLC Assay for the Determination of Azithromycin: Application to Solid Dosage and Biological Samples

Muhammad JEHangIR<sup>1,2</sup>, Dildar AHMED<sup>1</sup>, Mahmood AHMED<sup>3,4</sup> \* & Muhammad NAEEM<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Chemistry, Forman Christian College, A Chartered University, Lahore-Pakistan

<sup>2</sup> Novamed Pharmaceuticals, Lahore-Pakistan

<sup>3</sup> Renacon Pharma Limited, Lahore- Pakistan 54600

<sup>4</sup> Division of Science and Technology, University of Education, Lahore, Pakistan

**SUMMARY.** This paper describes the assay for the determination of azithromycin (AZMT) in tablet formulations and plasma samples by ultra-fast liquid chromatographic (UFLC) coupled with UV-Vis detector. The chromatographic separation was accomplished employing isocratic mode and the mobile phase comprised of methanol and phosphate buffer (80:20 v/v at 40 °C) adjusted to pH 6.5 by 8.6 % sodium hydroxide. The flow rate used was 0.6 mL/min on XB C18 column (1.8  $\mu$ m, 2.1  $\times$  100 mm). The analysis of AZMT was performed at a wavelength of 210 nm and injection of samples was 1.0  $\mu$ L. The runtime for analysis was 5.0 min and retention times of clarithromycin (as internal standard) and AZMT were found to be 1.82 and 2.92 min, respectively. The calibration graph showed linearity over the concentration range 20-140  $\mu$ g/mL with coefficient of determination ( $R^2$ ) equal to 0.9966. Repeatability and reproducibility (expressed as RSD %) were lower than 1.61 and 1.32 %, respectively. Moreover, UFLC method had remarked advantages over HPLC as run time reduced by 3.0 fold and solvent consumption decreased by 5 times. The proposed UFLC method was demonstrated to be simple and rapid for the determination of AZMT in tablet formulations samples providing recoveries in the range between 100.34-100.92% whereas complete separation of degradation products from analyte under investigation provide the specificity of propose UFLC method.

**RESUMEN.** Este trabajo describe el ensayo para la determinación de azitromicina (AZMT) en formulaciones de tabletas y muestras de plasma mediante cromatografía líquida ultrarrápida (UFLC) junto con un detector UV-Vis. La separación cromatográfica se realizó empleando el modo isocrático y la fase móvil estuvo compuesta de metanol y tampón fosfato (80:20 v/v a 40 °C) ajustada a pH 6,5 por hidróxido de sodio al 8,6%. El caudal utilizado fue de 0,6 mL/min en la columna XB C18 (1,8  $\mu$ m, 2,1  $\times$  100 mm). El análisis de AZMT se realizó a una longitud de onda de 210 nm y la inyección de muestras fue de 1,0  $\mu$ L. El tiempo de ejecución para el análisis fue de 5 min y los tiempos de retención de claritromicina (como patrón interno) y AZMT fueron de 1,82 y 2,92 min, respectivamente. El gráfico de calibración mostró linealidad en el rango de concentración 20-140  $\mu$ g/mL con un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) igual a 0.9966. La repetibilidad y la reproducibilidad (expresadas como RSD%) fueron inferiores a 1,61 y 1,32%, respectivamente. Además, el método UFLC tuvo ventajas notables sobre HPLC, ya que el tiempo de ejecución se redujo 3 veces y el consumo de solvente disminuyó 5 veces. Se demostró que el método UFLC propuesto es simple y rápido para la determinación de AZMT en muestras de formulaciones de tabletas que proporcionan recuperaciones en el rango entre 100.34-100.92%, mientras que la separación completa de los productos de degradación del analito bajo investigación proporciona la especificidad del método UFLC propuesto.

**KEY WORDS:** Macrolide antibiotic, azithromycin, UFLC, biological samples

\* Author to whom correspondence should be addressed. E-mail: mahmoodresearchscholar@gmail.com