



Development and Validation of 96-Microwell-Based Spectrophotometric Assay with High-Throughput for Pharmaceutical Quality Control of Fluoxetine

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 96-microwell-based spectrophotometric assay with high-throughput for the pharmaceutical quality control of fluoxetine (FLX), the selective serotonin reuptake inhibitor antidepressant drug. The assay involved the reaction between FLX and 1,2-naphthoquinone-4-sulphonate (NQS) in alkaline medium (pH 9) producing a red-colored product exhibiting maximum absorption peak (λ_{\max}) at 490 nm. The assay reaction was carried out in 96-microwell assay plate and the absorbance of the colored-product was measured by microwell plate absorbance reader. The optimized reaction conditions were established; under which, Beer's law was obeyed in the range of 10-100 $\mu\text{g}/\text{well}$ with good correlation coefficient (0.9988). The limits of detection and quantification were 5.2 and 15.7 $\mu\text{g}/\text{well}$, respectively. The assay showed high precision as the values of relative standard deviations (RSD) did not exceed 2.83%. The proposed assay was applied successfully for the determination of FLX in its pharmaceutical dosage forms (capsules) with good accuracy and precisions; the label claim percentage was $99.8 \pm 1.2\%$. 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 the determination of FLX in pharmaceutical quality control laboratories with high-throughput.

RESUMEN. Este estudio describe el desarrollo y validación de un ensayo espectrofotométrico de 96 micropocillos con alto rendimiento para el control de calidad farmacéutica de la fluoxetina (FLX), el fármaco antidepresivo inhibidor de la recaptación de serotonina. El ensayo consistió en la reacción entre FLX y 1,2-naftoquinona-4-sulfonato de (NQS) en medio alcalino (pH 9) y la generación de un producto de color rojo que exhibe un pico de máxima absorción (λ_{\max}) a 490 nm. La reacción se llevó a cabo el ensayo en placa de ensayo de 96 micropocillos y la absorbancia del producto de color se midió mediante lector de absorbancia en placa de micropocillos. Se establecieron las condiciones de reacción optimizadas; en virtud de las cuales la ley de Beer fue obedecida en el rango de 10-100 $\mu\text{g}/\text{pocillo}$ con buen coeficiente de correlación (0.9988). Los límites de detección y cuantificación fueron 5,2 y 15,7 $\mu\text{g}/\text{pocillo}$, respectivamente. El ensayo mostró una alta precisión, ya que los valores de las desviaciones estándar relativas (RSD) no superaron el 2,83%. El ensayo propuesto se aplicó con éxito para la determinación de FLX en sus formas de dosificación farmacéuticas (cápsulas) con buena seguridad y precisión; el porcentaje indicado en la etiqueta era $99,8 \pm 1,2\%$. Los resultados se compararon favorablemente con los de un método de referencia. Los resultados demostraron que el ensayo propuesto tiene gran valor práctico en la solicitud de rutina para la determinación de FLX en laboratorios farmacéuticos de control de calidad con alto rendimiento.

KEY WORDS: fluoxetine, high-throughput, 96-microwell-based assay, 1,2-naphthoquinone-4-sulphonate, pharmaceutical quality control, spectrophotometry.

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