



Quantification of Duloxetine in Spiked Human Plasma using LC-MS/MS and its Application to Pharmacokinetic Study

M.A. RAJA ¹, Kola VENU ², Prasenjit MONDAL ^{2*}, Manish K. THIMMARAJU ³,
Arjun GOJE ⁴, Rudra D. KUMAR ², Velpula SAIKIRAN ³,
Vallepu NAGARAJU ³, Dasari BHARATH ³ & Gummadi L. PRASANNA ³

¹ Department of Biomedical Engineering, Dr.N.G.P Institute of Technology,
Coimbatore, Tamilnadu-641048, India

² Department of Pharmacy, Vaageswari Institute of Pharmaceutical Sciences,
Thimmapur, Karimnagar-505481, India

³ Department of Pharmacy, Balaji Institute of Pharmaceutical Sciences,
Narsampet, Warangal-506132, India

⁴ Teegala Krishna Reddy college of Pharmacy, Meerpet, Hyderabad-500097, India

SUMMARY. Duloxetine is a selective serotonin and nor epinephine-reuptake inhibitor for the treatment of major depressive illness and diabetic peripheral neuropathic pain. The present research work described about the estimation of duloxetine (DULOX) in spiked human plasma using ESI, LC-MS/MS technique, and its application to pharmacokinetic study in rabbits. A liquid-liquid extraction technique was utilized for the extraction of DULOX in spiked human plasma. The separation was conducted using ZORBAX SB-C18 column with 4.6 mm internal diameter with 5 μ m particle size using acetonitrile:5 mM ammonium acetate in water (80:20, v/v) as a mobile phase. Positive ion mode was selected for the product ion mass spectra m/z 298 \rightarrow 154.10 for DULOX and m/z 303 \rightarrow 159.10 for DULOX-D5 (internal standard). The retention time of DULOX was found 1.10 min, for DULOX-D5 it was 1.21 min, with a run time of 2.5 min. The present method exhibits excellent intra- and interday accuracy with % nominal 96.97 \rightarrow 102.35 %, precision %CV \leq 3.23 % in all quality control levels. The developed method demonstrated good matrix and analyte selectivity (% interference = 0), matrix effect (matrix factor 2.09 at LQC and 1.14 at HQC level) and satisfactory stability study results in all types (% nominal 94.03 % \rightarrow 100.80 %) were found satisfactory. The linearity was found in the range of 0.5032-200.170 ng/mL with a correlation coefficient (r^2) = 0.999. The pharmacokinetic study on rabbit plasma samples also conducted and the parameters of DULOX showed T_{max} of 7.06 h. Present method has been successfully optimised, validated and applied for the pharmacokinetic study of marketed formulation in rabbit blood samples in single oral human equivalent dose.

RESUMEN. La duloxetina es un inhibidor selectivo de la recaptación de serotonina y epinefrina para el tratamiento de enfermedades depresivas y dolor neuropático periférico diabético. El presente trabajo de investigación describe la estimación de duloxetina (DULOX) en plasma humano enriquecido utilizando la técnica ESI, LC-MS/MS, y su aplicación al estudio farmacocinético en conejos. Se utilizó una técnica de extracción líquido-líquido para la extracción de DULOX en plasma humano enriquecido. La separación se realizó usando una columna ZORBAX SB-C18 con un diámetro interno de 4,6 mm con un tamaño de partícula de 5 μ m usando acetonitrilo: acetato de amonio 5 mM en agua (80:20, v/v) como fase móvil. Se seleccionó el modo de iones positivos para los espectros de masas de iones del producto m/z 298 \rightarrow 154.10 para DULOX y m/z 303 \rightarrow 159.10 para DULOX-D5 (patrón interno). El tiempo de retención de DULOX fue de 1,10 min, para DULOX-D5 fue 1,21 min, con un tiempo de ejecución de 2,5 min. El presente método exhibe una excelente precisión intra- e interdiaria con % nominal 96.97 \rightarrow 102.35%, precisión % CV \leq 3.23% en todos los niveles de control de calidad. El método desarrollado demostró una buena selectividad de matriz y analito (% de interferencia = 0), efecto de matriz (factor de matriz 2.09 a LQC y 1.14 a nivel de HQC) y resultados satisfactorios del estudio de estabilidad en todos los tipos (% nominal 94.03% \rightarrow 100.80%). La linealidad se encontró en el rango de 0.5032-200.170 ng/mL con un coeficiente de correlación (r^2) = 0.999. El estudio farmacocinético en muestras de plasma de conejo también se realizó y los parámetros de DULOX mostraron una T_{max} de 7.06 h. El presente método se ha optimizado, validado y aplicado con éxito para el estudio farmacocinético de la formulación comercializada en muestras de sangre de conejo equivalente a una sola dosis oral humana.

KEY WORDS: duloxetine, LC-MS/MS, method development, pharmacokinetics.

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