



New 96-Microwell-based Spectrophotometric Assay with High-throughput for Determination of Lenalidomide in Capsules: the New Potent Drug for Treatment of Multiple Myeloma

Nourah Z. ALZOMAN¹, Maha A. SULTAN², Hadir M. MAHER^{1,3},
Mona M. ALSHEHRI¹, Manal A. EL-GENDY¹, Tanveer A. WANI¹ & Ibrahim A. DARWISH^{1*}

¹ Department of Pharmaceutical Chemistry, College of Pharmacy,
King Saud University, Riyadh, Saudi Arabia

² Department of Analytical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Helwan University, Cairo, Egypt

³ Department of Pharmaceutical Analytical Chemistry, Faculty of Pharmacy,
University of Alexandria, El-Messalah, Alexandria 21521, Egypt

SUMMARY. This study describes the development and validation of a new 96-microwell-based spectrophotometric assay with high-throughput for pharmaceutical quality control of lenalidomide (LND), the new drug for treatment of multiple myeloma. The reaction between LND and 1,2-naphthoquinone-4-sulphonate (NQS) as a chromogenic reagent was investigated. In alkaline medium (pH 9), a red-colored product exhibiting maximum absorption peak (λ_{\max}) at 462 nm was produced. The stoichiometry and kinetic of the reaction were investigated and the reaction mechanism was postulated. This color-developing reaction was employed, for the first time, in the development of the proposed assay. The reaction was carried out in 96-microwell plate and the absorbance of the colored-product was measured by microwell plate absorbance reader at 450 nm. The optimized reaction conditions were established; under which, Beer's law correlating the absorbance with LND concentration was obeyed in the range of 3-100 $\mu\text{g/mL}$ with appropriate correlation coefficient (0.9986). The limits of detection and quantification were 2.82 and 8.55 $\mu\text{g/mL}$, respectively. The assay showed high precision as the values of relative standard deviations (RSD) did not exceed 1.25%. No interference was observed from the excipients that are present in the capsules. The proposed assay was applied successfully for the determination of LND in its pharmaceutical capsules with appropriate accuracy and precisions; the label claim percentage was $101.43 \pm 1.35\%$. The results were compared favorably with those of a reference pre-validated method. The proposed assay is practical and valuable in terms of its routine application in pharmaceutical quality control laboratories.

RESUMEN. Este estudio describe el desarrollo y validación de un nuevo ensayo espectrofotométrico en 96 micropocillos, con alto rendimiento para el control de calidad farmacéutica de lenalidomida (LND), el nuevo fármaco para el tratamiento del mieloma múltiple. Se investigó la reacción entre LND y 1,2-naftoquinona-4-sulfonato (NQS) como reactivo cromogénico. En medio alcalino (pH 9) se produjo un producto de color rojo de λ_{\max} a 462 nm. Se investigó la estequiometría y cinética de la reacción y se postula el mecanismo de reacción. Esta reacción de desarrollo del color se empleó por primera vez en el ensayo propuesto. La reacción se llevó a cabo en placas de 96 micropocillos y la absorbancia del producto se midió mediante un lector de placa de micropocillos a 450 nm. Se establecieron las condiciones de reacción optimizadas, donde la ley de Beer fue obedecida en el rango de 3-100 $\mu\text{g/mL}$ con un coeficiente de correlación adecuado (0.9986). Los límites de detección y cuantificación fueron 2,82 y 8,55 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente. El ensayo mostró una alta precisión ya que los valores de las desviaciones estándar relativas (RSD) no superaron el 1,25%. No se observó ninguna interferencia de los excipientes que están presentes en las cápsulas. El ensayo propuesto se aplicó con éxito para la determinación de LND en cápsulas farmacéuticas con precisión y precisiones apropiadas; el porcentaje indicado en la etiqueta fue de $101,43 \pm 1,35\%$. Los resultados se compararon favorablemente con los de un método de referencia pre-validado. El ensayo propuesto es práctico y valioso en términos de su aplicación rutinaria en los laboratorios farmacéuticos de control de calidad.

KEY WORDS: high-throughput, lenalidomide, 96-microwell-based assay, 1,2-naphthoquinone-4-sulphonate, pharmaceutical analysis, photometry.

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