

# Validación del método analítico de la triyodotironina sódica

Y. RAMOS RODRIGO, M. J. MÉNDEZ FERNÁNDEZ<sup>1</sup>

*Servicio de Farmacia. Hospital Militar de Zaragoza.  
<sup>1</sup>Hospital Militar Gómez Ulla. Madrid*

## Resumen

**Objetivo:** Validar el método analítico por espectrofotometría ultravioleta de la triyodotironina sódica para poder utilizarlo en el control de calidad del polvo diluido de dicho principio activo con el que se elaborarán cápsulas con 25 µg del mismo principio.

**Material y métodos:** Se realiza un análisis por espectrofotometría ultravioleta de la triyodotironina sódica para obtener su espectro. Posteriormente se elabora una solución madre de triyodotironina sódica a partir de la cual se preparan 5 diluciones de diferente concentración para obtener la recta de calibración y estudiar así la linealidad del método. A continuación se seleccionan 3 de las 5 diluciones para realizar los estudios de repetitibilidad y reproducibilidad. Para el estudio de la exactitud se preparan 2 soluciones patrones de diferentes concentraciones. Con cada una de ellas se realizan 3 diluciones de diferente concentración. Se miden las absorbancias de los controles de ambas soluciones patrón para poder comparar los resultados obtenidos.

**Resultados:** Se realiza un barrido entre 350 y 200 nm obteniéndose un máximo experimental a 319 nm. El método es lineal para el intervalo de concentraciones considerado ( $r^2 = 0,9985$ ). Los coeficientes de variación son en torno al 2% indicando una buena repetitibilidad y reproducibilidad del método. El porcentaje medio de recuperación en muestras de concentración conocida no difiere significativamente del 100% teórico.

**Conclusión:** El método analítico estudiado es suficientemente fiable para producir el resultado previsto dentro de intervalos definidos.

**Palabras clave:** Triyodotironina sódica. Validación. Espectrofotometría ultravioleta.

## Summary

**Objective:** To validate the ultraviolet spectrophotometry analytical method for triiodothyronine sodium in order to use this

method in the quality control process of a diluted powder of said active principle for the manufacturing of 25 µg capsules.

**Material and methods:** An ultraviolet spectrophotometry analysis is performed on triiodothyronine sodium to obtain its spectrum. Subsequently, a mother solution of triiodothyronine sodium is made, from which 5 different-concentration dilutions are prepared in order to obtain a calibration line allowing the study of the method's linearity. Then 3 of these 5 dilutions are selected for repeatability and reproducibility studies. Two pattern solutions with differing concentrations are prepared for the accuracy study. Three different-concentration dilutions are prepared from each of them. The absorbencies of controls for both pattern solutions are measured to compare results obtained.

**Results:** A scan is performed between 350 and 200 nm, and an experimental peak of 319 nm is obtained. The method proves linear for the considered range of concentrations ( $r^2 = 0,9985$ ). Variation coefficients are around 2%, thus indicating good repeatability and reproducibility. The mean percentage of recovery in known-concentration samples does not significantly differ from the theoretical 100%.

**Conclusion:** The studied analytical method is adequately reliable to result in a foreseen result within defined intervals.

**Key words:** Triiodothyronine sodium. Validation. Ultraviolet spectrophotometry.

## INTRODUCCIÓN

La triyodotironina o T<sub>3</sub> es una hormona tiroidea que, junto con la tiroxina o T<sub>4</sub>, es particularmente importante en el desarrollo del sistema nervioso central. Las hormonas tiroideas aumentan el consumo de oxígeno, el metabolismo basal y el metabolismo de carbohidratos, proteínas y lípidos. La triyodotironina sódica, preparación sintética del isómero natural de la triyodotironina, puede ser usada en pacientes con una inadecuada producción de hormona tiroidea endógena (1). El comienzo de la acción de la misma es rápido, desarrollándose a las pocas horas

Recibido: 13-03-2002  
Aceptado: 19-07-2002

Correspondencia: Yolanda Ramos Rodrigo. Servicio de Farmacia. Hospital Militar Gómez Ulla. Glorieta del Ejército, s/n. 28047 Madrid. Tel.: 914228040. Fax 914228221.

de la administración y su vida media es corta (1 día frente a 7 u 8 días de la tiroxina) (2), por esta razón, la triyodotironina no es la mejor elección para mantener la función tiroidea. La levotiroxina, sal sódica del isómero natural de la tiroxina, es considerada el principio de elección para la terapia de sustitución en el hipotiroidismo.

La principal indicación de la triyodotironina sódica es el mantenimiento de la función tiroidea en pacientes con cáncer de tiroides previo al rastreo con yodo radioactivo  $^{131}\text{I}$ .

Nuestro hospital viene utilizando la triyodotironina sódica en los últimos años para mantener la actividad tiroidea en aquellos pacientes con cáncer de tiroides antes de realizar el rastreo con  $^{131}\text{I}$ . A dichos pacientes se le suprime el tratamiento que estaban siguiendo con tiroxina ya que ésta interfiere en el posterior rastreo que se lleva a cabo con  $^{131}\text{I}$ . Se les inicia una terapia con triyodotironina sódica durante 15 días para evitar el hipotiroidismo subclínico de los pacientes (síntomas como astenia, hipotermia y bradicardia entre otros) y posteriormente se les suprime la medicación durante los siguientes 15 días para así poder realizar la gammagrafía. Una dosis de triyodotironina sódica de 25  $\mu\text{g}$  es aproximadamente igual en actividad a 100  $\mu\text{g}$  de levotiroxina (3).

Es muy importante el control de las cápsulas de triyodotironina sódica de 25  $\mu\text{g}$  debido a que una equivocación en la dosis puede producir efectos adversos graves que corresponden a los síntomas del hipertiroidismo que incluye: taquicardia, palpitaciones, dolor de cabeza, nerviosismo, excitabilidad, insomnio, temblores, etc. (3). De ahí surge la iniciativa de nuestro Servicio de validar el método analítico de estas formulaciones utilizando el espectrofotómetro Lambda 40 y el programa estadístico Rsigma Babel, evitando de este modo la posible aparición de los efectos adversos anteriormente mencionados en los pacientes que van a ser sometidos al rastreo para detectar algún posible resto de tumor tiroideo.

El objetivo de nuestro estudio es la validación del método analítico de la triyodotironina sódica por espectrofotometría ultravioleta (UV).

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Material utilizado

El espectrofotómetro empleado es un Lambda 40 de doble haz de Perkin Elmer para el rango UV-visible. Dos fuentes de radiación, una lámpara de deuterio y una halógena, cubren el rango de longitud de onda de trabajo del espectrofotómetro, de 190 nm a 1.100 nm. El monocromador es un holograma cóncavo enrejado con 1.053 líneas/mm en el centro. El detector es un fotodiódodo.

Los productos químicos empleados fueron la triyodotironina sódica calidad Farmacopea Europea y el hidróxido sódico lentejas para análisis -ACS-ISO utilizado para la elaboración del hidróxido sódico 0,1 N.

Las pesadas se realizaron en una balanza Sartorius de precisión (desviación estándar) 0,05 mg.

### Método

Se ha utilizado como método analítico la espectrofotometría ultravioleta. Basándonos en la bibliografía referente a la valoración analítica de la triyodotironina sódica se encontró que la máxima absorción de esta sustancia es a 319 nm, valor dentro de la zona de ultravioleta, con una absorptividad específica igual a 65 (dato confirmado por diferentes investigadores). El disolvente empleado en las disoluciones fue el hidróxido sódico 0,1 N (4-6).

Se preparó una solución madre de 50 mg de triyodotironina sódica en 50 ml de NaOH 0,1N. Teniendo en cuenta la ley de Lambert-Beer (absorbancia= absorptividad específica x espesor de cubeta x concentración en g/100 ml) y una previsión de absorbancia de 0,8, se obtuvo una concentración experimental de 12,4 mg en 100 ml del mismo disolvente. Con esta dilución se realizó un barrido entre 350 y 200 nm.

A partir de la disolución madre (50/50) se prepararon 5 diluciones con las siguientes concentraciones:

- 8 mg/100 ml de NaOH 0,1 N.
- 10 mg/100 ml de NaOH 0,1 N.
- 12 mg/100 ml de NaOH 0,1 N.
- 13 mg/100 ml de NaOH 0,1 N.
- 14 mg/100 ml de NaOH 0,1 N.

Se midieron espectrofotométricamente las absorbancias de estas 5 diluciones para obtener la recta de calibración (Tabla I).

**Tabla I.** Absorbancias medidas para cada concentración

<i>concentración mg/100 ml</i>	<i>absorbancia</i>
8	0,4924
10	0,6099
12	0,7474
13	0,8179
14	0,8882

A continuación se seleccionaron 3 de las 5 diluciones, la de 10 mg/100 m (control bajo), la de 12 mg/100 m (control medio) y la de 14 mg/100 m (control alto) y con ellas realizamos los estudios de repetitibilidad y reproducibilidad.

Para el estudio de la repetitibilidad se realizaron 5 medidas de cada control el mismo día a diferentes horas.

Para el estudio de la reproducibilidad se realizaron 5 medidas de cada control por día a diferentes horas durante 4 días consecutivos.

Para el estudio de la exactitud se prepararon 2 soluciones patrones de diferentes concentraciones, una de 50 mg de triyodotironina sódica en 50 m de NaOH 0,1 N y otra de 50

mg en 100 m del mismo disolvente. Con cada una de ellas se realizaron 3 diluciones de diferente concentración.

Con la solución patrón de 50/50 las diluciones son las siguientes:

- 10 mg/100 m de NaOH 0,1 N (control bajo).
- 12 mg/100 m de NaOH 0,1 N (control medio).
- 14 mg/100 m de NaOH 0,1 N (control alto).

Con la solución patrón de 50/100 variamos las diluciones:

- 11 mg/100 m de NaOH 0,1 N (control bajo).
- 14 mg/100 m de NaOH 0,1 N (control medio).
- 16 mg/100 m de NaOH 0,1 N (control alto).

Se midieron las absorbancias de cada control de la primera y segunda solución patrón 5 veces intradía para poder comparar los resultados obtenidos.

**Análisis estadístico de la validación**

La validación del método analítico de la triyodotironina sódica se realizó utilizando el programa estadístico Rsigma Babel. Tras introducir todos los resultados obtenidos, el programa nos ofreció la ecuación de la recta de calibración así como otros datos estadísticos de interés: el r<sup>2</sup> o factor de regresión, la t de Student, el grado de significación, los porcentajes de recuperación medio de los distintos controles, la media de las medias y los coeficientes de variación (7,8).

**RESULTADOS**

Se realizó un barrido para comprobar el máximo bibliográfico desde 350 a 200 nm, obteniéndose un máxi-

mo experimental a 319 nm cuya absorbancia fue de 0,7962, siendo la absorptividad específica experimental de 64,2 (Fig.1).

La ecuación de la curva de calibración de las concentraciones respecto a las absorbancias fue:

$$A = -0.044768 + 0.066309 \times C.$$

A = resultados de absorbancia.

C = concentración en g/100 m.

El coeficiente de correlación r<sup>2</sup> fue igual a 0,9985, lo que indicó que la curva tiene una buena relación lineal (Fig. 2). La ordenada en el origen no difiere estadísticamente de cero.

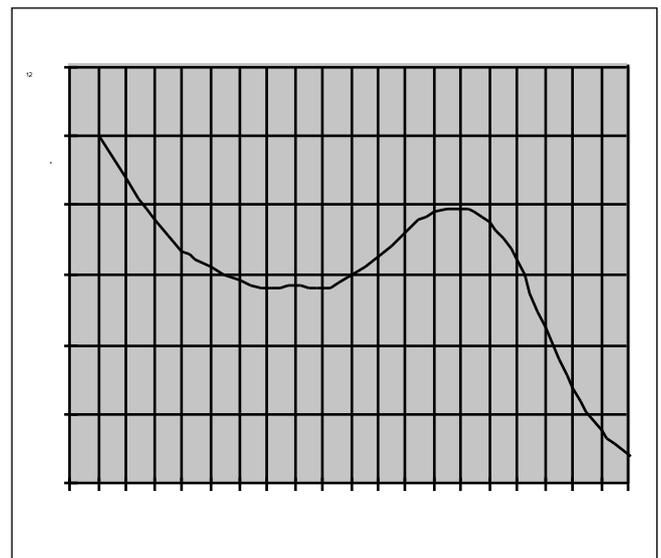


Fig. 1.- Representación del espectro de triyodotironina sódica.

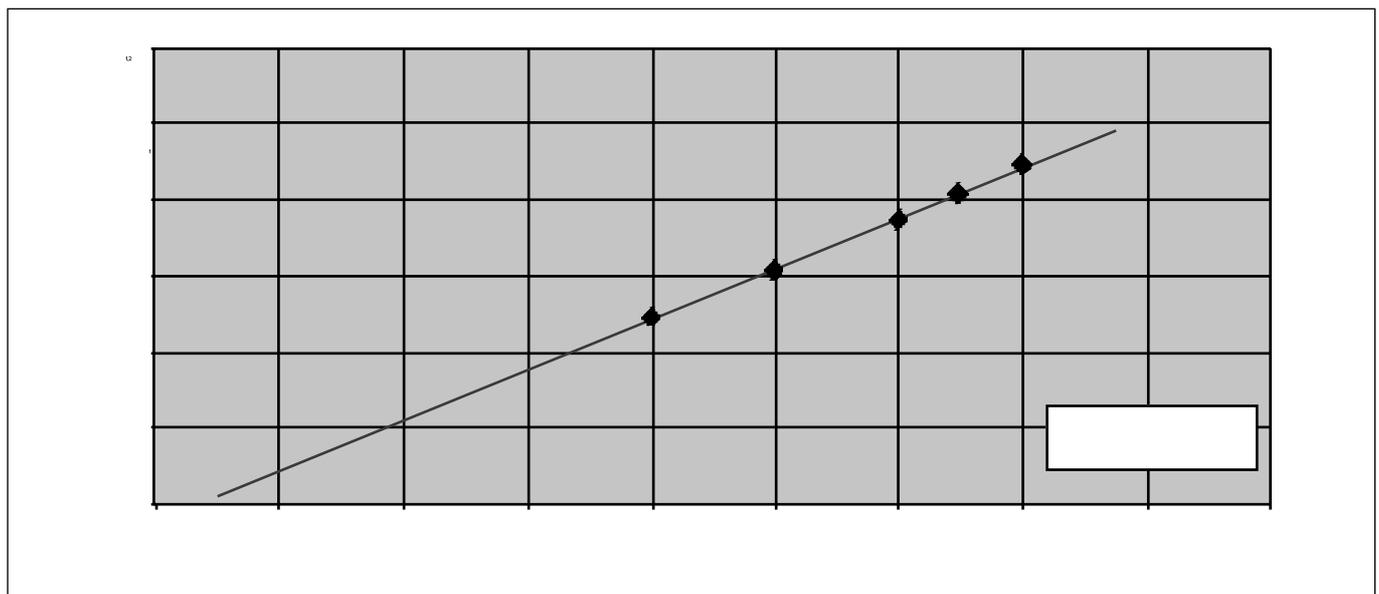


Fig. 2.- Recta de calibración de la triyodotironina sódica.

**Tabla II.** Estudio de la repetibilidad

Concentración del control	Nº de análisis	Señal de absorbancia	Señal media mg/100ml	CV (%)
10 mg/100 ml	5	0,624	10,19	0,68
		0,629		
		0,634		
		0,635		
		0,634		
12 mg/100 ml	5	0,72	11,83	1,43
		0,743		
		0,744		
		0,746		
		0,747		
14 mg/100 ml	5	0,868	14,3	2,2
		0,909		
		0,917		
		0,914		
		0,917		

Los resultados obtenidos mediante el programa estadístico Rsigma Babel fueron unos coeficientes de variación (CV) inferior al 11%, esto nos indicó que nuestro modelo tiene una buena repetibilidad (Tabla II).

Para el estudio de la reproducibilidad, el procesado de muestras se realizó en diferentes días a diferentes horas; igual que en el caso anterior, el coeficiente de variación (CV) es inferior al 11%, lo que nos indicó que nuestro modelo tiene buena reproducibilidad (Tabla III) (7).

Al realizar el estudio de la exactitud se observó que comparando el porcentaje teórico (100%) respecto a la media global o media de las medias de los 3 controles, daba como resultado una t de Student igual a 1,7523 y una probabilidad (P) igual a 0,13027 que, al ser superior a 0,05, nos indicó que no existen diferencias estadísticamente significativas, lo que confirma la buena exactitud del método (Tabla IV).

## DISCUSIÓN

La elaboración de las cápsulas de triyodotironina sódica de 25 µg es especial debido a la baja concentración de las mismas. La validación de este método analítico es fundamental para poder realizar un control del principio activo con el que se prepararan las mismas. Es necesario realizar 3 diluciones del principio activo (1/10, 1/100 y

**Tabla III.** Estudio de la reproducibilidad

Concentración del control	Señal de absorbancia				Señal media mg/100 ml	CV (%)
	Día 1º	Día 2º	Día 3º	Día 4º		
10 mg/100 ml	0,62	0,612	0,64	0,642	10,2	2,05
	0,617	0,605	0,643	0,648		
	0,614	0,63	0,646	0,64		
	0,623	0,634	0,647	0,643		
	0,625	0,64	0,647	0,643		
12 mg/100 ml	0,74	0,742	0,78	0,782	12,28	1,97
	0,753	0,739	0,78	0,782		
	0,756	0,769	0,785	0,782		
	0,76	0,772	0,78	0,781		
	0,758	0,778	0,781	0,783		
14 mg/100 ml	0,88	0,887	0,922	0,927	14,4	1,7
	0,895	0,879	0,923	0,928		
	0,9	0,914	0,923	0,925		
	0,9	0,913	0,924	0,926		
	0,902	0,916	0,924	0,915		

**Tabla IV.** Estudio de la exactitud

Concentración del control	Nº de análisis	% de recuperación respecto de la concentración teórica del control	% Medio
10 mg/100 ml	5	100,85	101,94
		101,6	
		102,36	
		102,5	
		102,36	
12 mg/100 ml	5	96,1	98,62
		99	
		99,12	
		99,37	
		99,5	
14 mg/100 ml	5	98,32	102,3
		102,73	
		103,6	
		103,27	
		103,6	
		% medio global	100,95

1/1.000). El polvo que se analiza por espectrofotometría UV es el de la segunda dilución (1 g de polvo de la primera dilución + 0,5 g de talco + 8,5 g de celulosa microcristalina). Este polvo tiene una concentración de triyodotironina sódica de 100 mg en 10 g de excipiente. El motivo de utilizar esta dilución para su control espectrofotométrico es porque con ella se puede llegar fácilmente y sin error a una concentración que nos entre dentro de la recta de calibración. Si se utilizase la tercera dilución la cantidad de muestra sería excesiva y el error mayor. Una vez analizada esta dilución, se prepara la tercera realizando un control de pesada en el proceso de elaboración de las cápsulas.

La precisión se expresa matemáticamente por la desviación estándar o, preferiblemente, por el coeficiente de variación. Horwitz y Kolthoff indican coeficientes de

variación máximos permitidos en función del porcentaje de analito en la muestra (7). Si el porcentaje está comprendido en el rango entre 0,01-0,001, el CV (%) máximo está entre 8 y 11,3%. Al ser los coeficientes de variación obtenidos en nuestro estudio inferiores al 8% podemos concluir que nuestro método analítico tiene una buena precisión para el análisis de nuestra materia prima.

El método analítico empleado para la valoración de la triyodotironina sódica se puede validar ya que es lo suficientemente fiable como para producir el resultado previsto dentro de intervalos definidos.

El control de las cápsulas de triyodotironina sódica de 25 µg se realiza mediante un método indirecto ya que valoramos espectrofotométricamente hasta la segunda dilución (1/100) y se completa con un control de pesada en el proceso de elaboración.

## Bibliografía

---

1. Drugdex®, Drug Evaluations. Micromedex Healthcare Series 2000; Vol. 104.
2. Flórez J. Farmacología Humana, 3ª. ed. Barcelona: Masson, 1997. p. 917-9.
3. Reynolds J. Martindale. The Extra Pharmacopoeia, 31ª. ed. London: Royal Pharmaceutical Society, 1996. p. 1602-3.
4. Moffat AC. Clarke's Isolation and Identification of Drugs, 2ª. ed. London: Staff, 1986. p. 707.
5. Budavari S. The Merck Index, 11ª. ed. New Jersey: Merck and Co., 1989. p. 868.
6. British Pharmacopoeia Commission. British Pharmacopoeia, 14ª. ed. London: Her Majesty's Stationery Office, 1988. p. 336.
7. Castro M, Gascón S, Pujol M, Sans JM, Vicente L. Monografía de AEFI. Validación de métodos analíticos 1989: 29-34.
8. Carrasco JL, et al. Anales Instituto Médico Beneficencia. Estadística Medica 1978; 13 (4).