

Universidad Católica de Santa María
Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y
Biotechnológicas
Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica



**Identificación y cuantificación de CBD y THC por cromatografía
líquida de alta resolución en productos comercializados en la ciudad
de Arequipa**

Tesis presentada por los Bachilleres:

Céspedes Vilchez, Lorena del Rosario

ORCID: 0009-0009-5200-3100

Peñalva Fernández, David Piere

ORCID: 0009-0008-0008-3703

para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

Asesor:

Dr. Cardenas Garcia, Jaime Dante

ORCID: 0000-0003-1964-3332

Arequipa – Perú

2025

UCSM-ERP

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

FARMACIA Y BIOQUIMICA

TITULACIÓN CON TESIS

DICTAMEN APROBACIÓN DE BORRADOR

Arequipa, 02 de Diciembre del 2024

Dictamen: 011230-C-EFFyB-2024

Visto el borrador del expediente 011230, presentado por:

2016700012 - CESPEDES VILCHEZ LORENA DEL ROSARIO

2018246911 - PEÑALVA FERNANDEZ DAVID PIERE

Titulado:

**IDENTIFICACION Y CUANTIFICACION DE CBD Y THC POR CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA
RESOLUCION EN PRODUCTOS COMERCIALIZADOS EN LA CIUDAD DE AREQUIPA**

Nuestro dictamen es:

APROBADO

Título Profesional/Título de Segunda Especialidad/Grado Académico a optar:

QUÍMICO FARMACÉUTICO

**29520165 - TORRES VELA FERNANDO ANTERO
DICTAMINADOR**



**45482246 - ORTIZ ROMERO DERLY DAVID
DICTAMINADOR**



**70541954 - CANDIA PUMA MAYRON ANTONIO
DICTAMINADOR**



Identificación y cuantificación de CBD y THC por cromatografía líquida de alta resolución en productos comercializados en la ciudad de Arequipa

INFORME DE ORIGINALIDAD

24%

INDICE DE SIMILITUD

22%

FUENTES DE INTERNET

6%

PUBLICACIONES

11%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	Submitted to Universidad Católica de Santa María	3%
	Trabajo del estudiante	
2	hdl.handle.net	2%
	Fuente de Internet	
3	www2.ulpgc.es	1%
	Fuente de Internet	
4	www.digemid.minsa.gob.pe	1%
	Fuente de Internet	
5	doaj.org	1%
	Fuente de Internet	
6	eol.org	1%
	Fuente de Internet	
7	www.scielo.org.mx	1%
	Fuente de Internet	
8	idoc.pub	1%
	Fuente de Internet	

DEDICATORIA

Dedicado a mis padres por el apoyo en cada uno de los pasos de mi formación profesional.

A mi abuelo Nico por haber creído en mí.

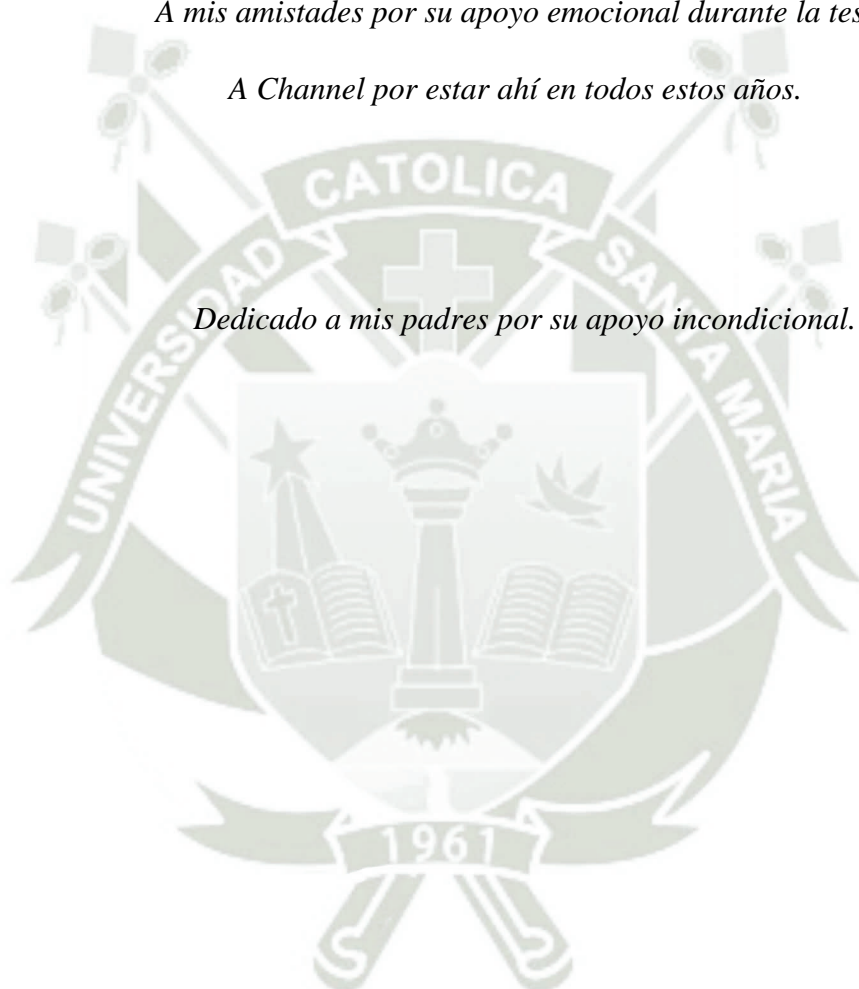
A mis amistades por su apoyo emocional durante la tesis.

A Channel por estar ahí en todos estos años.

Lorena.

Dedicado a mis padres por su apoyo incondicional.

David.



AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, queremos expresar nuestro profundo agradecimiento a nuestros queridos padres, por su apoyo incondicional, sus palabras de aliento y por creer en nosotros en los pasos que hemos dado a lo largo de nuestras vidas.

A nuestro asesor, PhD. Jaime Cárdenas García por la guía y el apoyo brindados, además de sus conocimientos compartidos durante la elaboración de esta tesis.

Al Laboratorio de Ensayo y Control de Calidad de la Universidad Católica de Santa María, por brindarnos un grato lugar para poder realizar nuestra tesis, sobre todo al Dr. Ricardo Abril, quien nos supo guiar con su conocimiento y capacitaciones y al Ing. Rodrigo Ramos que no solo nos compartió sus conocimientos, si no que a su vez nos brindó de muchos consejos, en especial en los momentos complicados durante nuestra elaboración de tesis.

Al Mgtr. Mayron por dedicarnos su tiempo y apoyo durante el desarrollo de nuestra tesis.

A nuestros docentes por la enseñanza brindada a lo largo de estos años.

Por último, gracias a nuestras amistades que nos han apoyado a lo largo de este camino, gracias por su sincera amistad y por estar presentes en cada etapa de nuestras vidas.

RESUMEN

En el Perú la venta y uso de cannabis medicinal es legal en base a la Ley N° 30681 del 2019 y la Ley N° 31312 del 2021; donde la ley regula la importación y elaboración de productos a base de cannabis. En nuestro país son pocas las metodologías que pueden identificar y cuantificar cannabinoides. Los pocos laboratorios que pueden hacer control de calidad de cannabinoides se encuentran en Lima, es por lo que algunos productores locales y artesanales de cannabis analizan sus muestras en el extranjero. La presente investigación tiene como objetivo el desarrollo de una metodología para la identificación y cuantificación de dos cannabinoides: el Cannabidiol (CBD) y Delta-9-Tetrahydrocannabinol (THC) debido a que son los más abundantes y resaltantes de la planta de marihuana. Para ello se recolectaron cinco muestras de aceites, para su posterior análisis, por Cromatografía Líquida de Alta Resolución en fase reversa con detector de arreglo de diodos (DAD). Se emplearon las soluciones estándar de CBD y THC proporcionadas por Merck, de la marca Sigma Aldrich con las siguientes concentraciones CBD 1 mg/mL y THC 1mg/mL. Para identificar los tiempos de retención se elaboraron dos soluciones patrón tanto para el CBD como para el THC de concentración 0.01 mg/mL, se determinó lo siguiente; el tiempo de retención para el CBD fue de 3.94 minutos y para el THC fue de 7.39 minutos. Se elaboró un gráfico de calibración de cada estándar, por lo que se preparó una solución mix con las dos soluciones patrón de concentración 0.01 mg/mL de CBD y THC, por lo que se inyectó 5,10,15,20,25 μ L por triplicado, replicando las siguientes condiciones cromatográficas tanto para muestras como estándares; 25 C° \pm 2, 228 nm, fase móvil isocrático 80:20 acetonitrilo: ácido acético 0.5 %. Se pudo identificar y cuantificar los cannabinoides anteriormente mencionados en la mayoría de los productos sometidos al análisis. La mayoría presentaron irregularidades en su contenido, ya que no presentaban dichos compuestos, y otros, si bien contenían los metabolitos mencionados en la etiqueta, no estaban en la concentración que se indicaba en el envase, solo dos de estos productos cumplían con lo mencionado en la etiqueta y tan solo uno de estos cumplía con el cien por ciento del contenido declarado. Por último, la metodología desarrollada en el presente trabajo es capaz de la identificación y cuantificación de cannabinoides por HPLC-DAD en fase reversa.

Palabras claves: Cannabis, Cáñamo, Marihuana, THC, CBD, HPLC, identificación, cuantificación.

ABSTRACT

In Peru, the sale and use of medicinal cannabis is legal based on Law No. 30681 of 2019 and Law No. 31312 of 2021; where the law regulates the import and production of cannabis-based products. In our country, there are few methodologies that can identify and quantify cannabinoids. The few laboratories that can perform quality control of cannabinoids are in Lima, which is why some local and artisanal cannabis producers analyze their samples abroad. The objective of this research is to develop a methodology for the identification and quantification of two cannabinoids: Cannabidiol (CBD) and Tetrahydrocannabinol (THC) because they are the most abundant and prominent in the marijuana plant. For this purpose, five oil samples were collected for later analysis by reverse-phase High Resolution Liquid Chromatography with a diode array detector (DAD). The standard solutions of CBD and THC provided by Merck, Sigma Aldrich brand, were used with the following concentrations: CBD 1 mg/mL and THC 1 mg/mL. To identify the retention times, two standard solutions were prepared for both CBD and THC with a concentration of 0.01 mg/mL, the following was determined; the retention time for CBD was 3.94 minutes and for THC it was 7.39 minutes. A calibration graph for each standard was prepared, so a mix solution was prepared with the two standard solutions with a concentration of 0.01 mg/mL of CBD and THC, for which 5,10,15,20,25 μ L were injected in triplicate, replicating the following chromatographic conditions for both samples and standards; 25 C° \pm 2, 228 nm, isocratic mobile phase 80:20 acetonitrile: 0.5% acetic acid. The above-mentioned cannabinoids could be identified and quantified in most of the products subjected to analysis. Most of them had irregularities in their content, since they did not contain these compounds, and others, although they contained the metabolites mentioned on the label, were not in the concentration indicated on the packaging. Only two of these products complied with what was mentioned on the label and only one of these complied with 100% of the content declared. Finally, the methodology developed in this work is capable of identifying and quantifying cannabinoids by reverse-phase HPLC-DAD.

Keywords: Cannabis, Hemp, Marijuana, THC, CBD, HPLC, identification, quantification.

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA	
AGRADECIMIENTOS	
RESUMEN	
ABSTRACT	
LISTA DE ABREVIATURAS	
INTRODUCCIÓN	1
HIPÓTESIS.....	3
OBJETIVOS.....	4
CAPÍTULO I MARCO TEÓRICO.....	5
1 EL CANNABIS	6
1.1 CARACTERÍSTICAS DE LA PLANTA DE CANNABIS.....	8
1.2 CANNABINOIDES	12
1.3 FARMACODINAMIA.....	14
1.4 FARMACOCINÉTICA	14
1.5 MECANISMO DE ACCIÓN.....	15
1.5.1 SISTEMA ENDOCANNABINOIDE.....	16
2 LEGISLACIÓN Y COMERCIO DE CANNABIS MEDICINAL.....	19
2.1 NORMATIVIDAD NACIONAL SOBRE CANNABIS	20
3 CANNABIS MEDICINAL	21
3.1 RIESGOS DERIVADOS DEL CONSUMO DE CANNABIS	21
3.2 ACEITE PORTADOR.....	23
3.3 POSOLOGÍA DEL ACEITE DE CANNABIS	23
4 CONTROL DE CALIDAD DE CANNABIS EN PERÚ	24
5 EXTRACCIÓN DE CANNABINOIDES Y ACEITES DE MARIHUANA	24
5.1 EXTRACCIÓN CON DISOLVENTE.....	25
5.2 EXTRACCIÓN POR ARRASTRE DE VAPOR.....	25
5.3 EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA	25
5.3.1 EXTRACCIÓN EN FRÍO	25
5.3.2 EXTRACCIÓN EN CALIENTE	25
5.4 ELABORACIÓN DE ACEITES DERIVADOS DEL CANNABIS	25

5.5	ACEITE DE CANNABIS	26
5.6	ACEITE DE CAÑAMO	26
5.7	ACEITE ESCENCIAL.....	26
6	CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICACIA (HPLC) Y CANNABINOIDES ..	26
6.1	CROMATOGRAFÍA	26
6.2	CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICACIA (HPLC) Y SUS COMPONENTES	27
6.3	GRÁFICO DE CALIBRACIÓN.....	29
6.4	CORRELACIÓN Y REGRESIÓN LINEAL	29
6.4	LÍMITE DE DETECCIÓN Y LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN	30
6.4.1	LÍMITE DE DETECCIÓN (LOD).....	30
6.4.2	LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN (LOQ).....	30
6.5	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	31
CAPITULO II MATERIALES Y MÉTODOS		32
1	LUGAR DE INVESTIGACIÓN.....	33
2	MATERIALES.....	33
2.1	REACTIVOS QUÍMICOS	33
2.2	EQUIPOS DE LABORATORIO	33
2.3	MATERIAL DE LABORATORIO	33
2.4	SOFTWARE	34
3	METODOLOGÍA	34
3.1	OBTENCIÓN DE LOS ESTÁNDARES	34
3.2	OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS	34
4	ANÁLISIS DE LOS ESTÁNDARES	36
4.1	TRATAMIENTO DE ESTÁNDARES PARA IDENTIFICACIÓN DE TIEMPOS DE RETENCIÓN CBD Y THC	36
4.2	TRATAMIENTO DE ESTÁNDARES PARA LA CUANTIFICACIÓN DE CBD Y THC	36
4.2.1	ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS	36
4.2.2	ELABORACIÓN DE LA FASE MÓVIL	36
4.2.3	SELECCIÓN DEL DISOLVENTE PARA LAS MUESTRAS	37
CAPITULO III.....		38

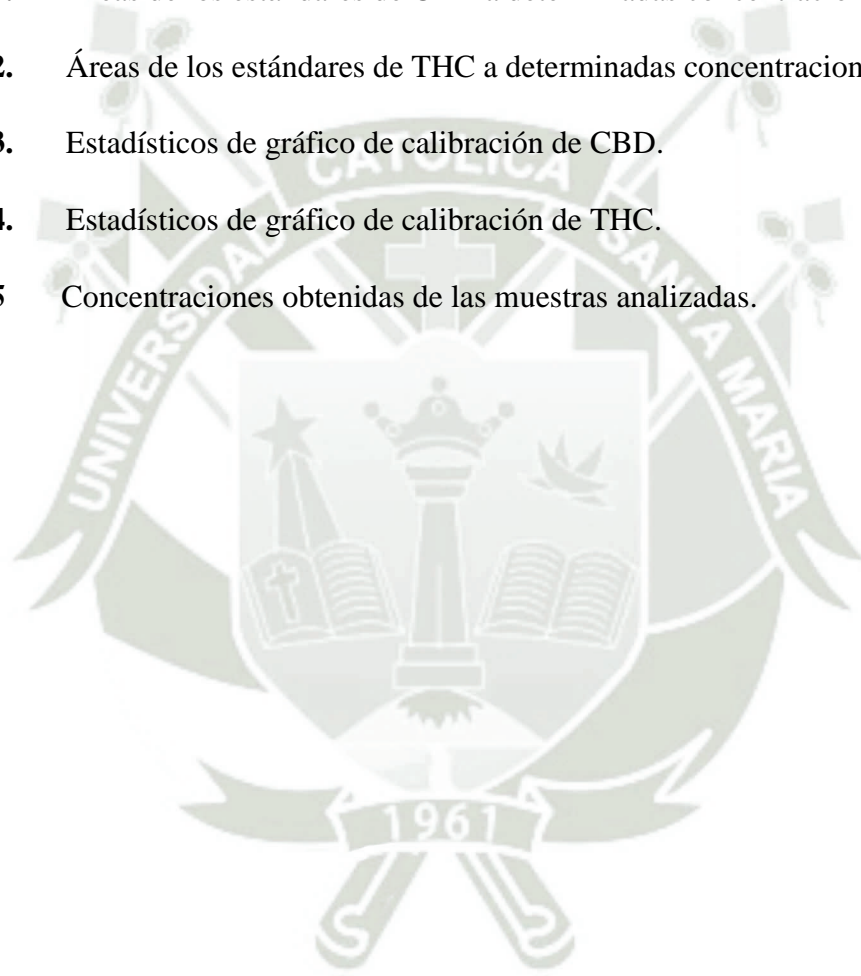
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	38
1 FASE MOVIL Y DISOLVENTE	39
2 IDENTIFICACIÓN MEDIANTE LA DETERMINACIÓN DE TIEMPOS DE RETENCIÓN DE CBD Y THC EN LOS ESTÁNDARES.....	39
2.1 TIEMPO DE RETENCIÓN	39
3 CUANTIFICACIÓN MEDIANTE LA DETERMINACIÓN DE ÁREAS DE CBD Y THC EN LOS ESTÁNDARES	41
3.1 GRÁFICO DE CALIBRACIÓN.....	41
3.2 LINEALIDAD.....	42
3.2.1 LÍMITE DE DETECCIÓN (LOD) Y LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN (LOQ) ..	43
3.2.2 PRUEBA t-STUDENT PARA LINEALIDAD	43
3.3 DETERMINACIÓN DE CBD Y THC EN LA MUESTRA	43
CAPITULO IV	46
CONCLUSIONES.....	47
RECOMENDACIONES.....	48
REFERENCIAS.....	49
ANEXOS.....	54

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.1.** ¿En dónde es legal la marihuana?
- Figura 1.2.** Taxonomía de la planta de cannabis.
- Figura 1.3:** Estructura del Delta-9-Tetrahidrocannabinol.
- Figura 1.4:** Estructura del Cannabidiol.
- Figura 1.5:** Descarboxilación de CBDA a CBD.
- Figura 1.6.** Estructuras químicas de los principales cannabinoides endógenos.
- Figura 1.7.** Función de los terminales sinápticos.
- Figura 1.8.** Sistema Endocannabinoide.
- Figura 1.9.** Acoplamiento de THC y CBD a los receptores de cannabinoides.
- Figura 1.10.** Componentes del equipo HPLC.
- Figura 2.1.** Tiempos de retención de CBD y THC.
- Figura 2.2.** Gráfico de calibración de CBD.
- Figura 2.3.** Gráfico de calibración de THC.

ÍNDICE DE TABLAS

- Tabla 1.1.** Especies catalogadas del género Cannabis L.
- Tabla 1.2.** Subespecies de Cannabis Sativa L.
- Tabla 1.3.** Subespecies de Cannabis Indica L.
- Tabla 2.1.** Contenido declarado de las muestras.
- Tabla 3.1.** Áreas de los estándares de CBD a determinadas concentraciones.
- Tabla 3.2.** Áreas de los estándares de THC a determinadas concentraciones.
- Tabla 3.3.** Estadísticos de gráfico de calibración de CBD.
- Tabla 3.4.** Estadísticos de gráfico de calibración de THC.
- Tabla 3.5** Concentraciones obtenidas de las muestras analizadas.



ÍNDICE DE ANEXOS

- Anexo 1:** Anti-publicidad del cannabis siglo 19.
- Anexo 2:** Anti-publicidad del cannabis siglo 19.
- Anexo 3:** Registro nacional de pacientes usuarios del cannabis y sus derivados para uso medicinal y terapéutico.
- Anexo 4:** Muestras proporcionadas para la investigación.
- Anexo 5:** Certificado de Análisis del estándar de Cannabidiol.
- Anexo 6:** Certificado de Análisis del estándar de THC.



LISTA DE ABREVIATURAS

2-AG:	2-araquidonoil glicerol.
AEA:	Anandamida (AEA).
CB1:	Receptor Cannabinoide 1.
CB2:	Receptor Cannabinoide 2.
CBD:	Cannabidiol
DAD:	Detector de Arreglo de Diodos.
DAGL:	Diacilglicerol.
DIGEMID:	Dirección General de Insumos de Medicamentos y Drogas.
FADH:	Flavín adenín dinucleótido.
HPLC:	Cromatografía Líquida de Alta Resolución.
INS:	Instituto Nacional de Salud.
MAGL:	Monoacilglicerol lipasa.
MINSA:	Ministerio de Salud.
NADA:	N-araquidonoildolamina.
NAPE:	N-acil fosfatidiletanolamina.
THC:	Delta-9-Tetrahydrocannabinol

INTRODUCCIÓN

La industria del cannabis en el Perú está en auge y en constante crecimiento, la Ley N° 30681 (Ley que regula el uso medicinal y terapéutico del cannabis y sus derivados) y Ley N° 31312 (Ley que incorpora los artículos 3-A y 8-A) permiten su cultivo, importación, comercialización, producción con fines medicinales, terapéuticos y de investigación. (1,2)

Los productos con base en cannabinoides que son autorizados para usarse con fines terapéuticos deben tener un respaldo científico a su seguridad y eficacia, estos medicamentos pueden consistir en aceites derivados de la planta. (3)

Para garantizar que los productos medicinales derivados del cannabis sean seguros para los pacientes que los consumen, bajo supervisión médica, el Ministerio de Salud (Minsa), a través del Instituto Nacional de Salud (INS), se controla la calidad de los productos, verificando que cumplan sus especificaciones de calidad y seguridad.

A principios de 2022, más de 24 mil pacientes en Perú estuvieron registrados en el registro único de pacientes usuarios de cannabis de la Dirección General de Insumos de Medicamentos y Drogas (DIGEMID), sin embargo, solo el 30 % de estas personas pueden acceder formalmente.

Los productos formales derivados del cannabis, comercializados en Perú son manufacturados con materias primas extranjeras. La DIGEMID comenzó con la comercialización de aceite de CBD en el año 2019, pero está únicamente disponible en la farmacia del distrito San Miguel en la ciudad de Lima. (4)

Por consecuencia, los pacientes recurren a conseguir productos elaborados de manera artesanal y magistral, mediante cultivo artesanal y asociativo lo cual podría poner en riesgo su salud.

En el mercado local (Arequipa, Perú) en donde diversos comerciantes ofrecen sus productos que dicen contener cannabinoides, la mayoría de estos productos son elaborados de forma magistral y artesanal (5), y se pueden conseguir tanto de manera formal como informal.

La creciente disponibilidad de productos artesanales o magistrales, que no cuentan con un control adecuado y pone en riesgo la salud de los pacientes. Estos productos pueden contener concentraciones inexactas de cannabinoides, lo que no solo puede disminuir su efectividad terapéutica, sino también generar efectos no deseados, afectando el bienestar y la seguridad de quienes confían en ellos para su tratamiento.

El objetivo de este proyecto es la identificación y cuantificación de los siguientes cannabinoides, Delta-9-Tetrahidrocannabinol (THC) y Cannabidiol (CBD) mediante cromatografía líquida de alta resolución, en muestras que se puedan obtener de manera formal en la ciudad de Arequipa. Para su posterior comparación y saber si estas cumplen con las concentraciones indicadas para conseguir un efecto terapéutico.



HIPÓTESIS

Dado a que los estándares primarios son empleados para la identificación y cuantificación de analitos, se puede diseñar una metodología que permita la identificación y cuantificación de CBD y THC en productos derivados de cannabis comercializados en la ciudad de Arequipa.



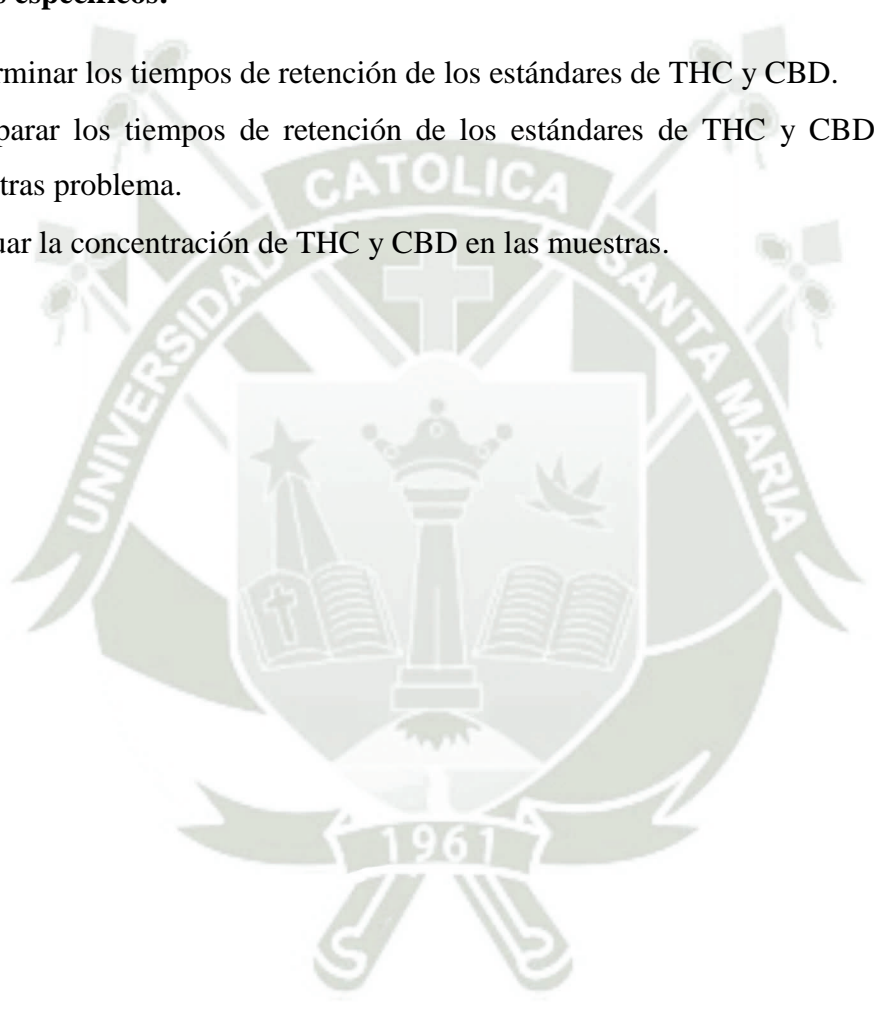
OBJETIVOS

Objetivo general:

- Identificar y cuantificar Cannabidiol y Delta-9-Tetrahidrocannabinol por cromatografía líquida de alta resolución en productos comercializados en la ciudad de Arequipa.

Objetivos específicos:

- Determinar los tiempos de retención de los estándares de THC y CBD.
- Comparar los tiempos de retención de los estándares de THC y CBD con los de las muestras problema.
- Evaluar la concentración de THC y CBD en las muestras.





CAPÍTULO I MARCO TEÓRICO

1 EL CANNABIS

El Cannabis, también llamado marihuana o marijuana entre otros nombres, tuvo sus orígenes en Asia central, se expandió hacia el oeste con el paso de los años, específicamente en Europa, sin embargo, no fue hasta después del periodo Neolítico (10000 - 2200 AC) que alcanzó el occidente.

Sus propiedades han sido registradas en textos chinos de casi 2000 años de antigüedad donde se relata el uso de las inflorescencias o cogollos para tratar el dolor y enfermedades mentales. En la cultura china se encuentran referencias del uso de cannabis en la literatura, filosofía, poesía, agricultura y medicina, en este país existe un germoplasma diverso con variedades genéticas totalmente distintas entre sí. (6)

Se conoce que la marihuana se ha utilizado durante milenios y se ha demostrado que la mayoría de las partes de la planta puede ser útil, ya que durante todo este periodo de tiempo se usó con fines religiosos, textiles, recreativos, como alimento y por último como fármaco lo cual despertó el interés de los investigadores, debido al descubrimiento del sistema cannabinoide endógeno, esto pone en tela de juicio a esta "planta prohibida" por los estigmas que la acompañan. (7)

A mediados del siglo diecinueve, en las farmacopeas europeas ya se podía evidenciar la presencia del cannabis, pero esto duro muy poco dado que se crearon otras sustancias sintéticas las cuales presentarían una mayor estabilidad.

No obstante, esta planta se empezó a ver mal a mediados de siglo veinte debido a que se le hizo una campaña anti publicitaria por los efectos alucinógenos que producía, dando a entender que los consumidores de esta planta podrían cometer actos ilegales, inmorales y perversos (Anexo 1 y 2), por consecuencia se prohibió en 1961, mediante la Convención Única de Drogas de las Naciones Unidas, y se empezó a penalizar el uso, posesión y venta, pero pese a estas prohibiciones en algunos países según la Organización de las Naciones Unidas es la sustancia ilícita más utilizada en el mundo. (8)

En el año 1964 el científico búlgaro Raphael Mechoulam junto a Yechiel Gaoni y Habib Edery en el Instituto Weizmann de Ciencias, en Rejovot, Israel lograron aislar el THC y gracias a ellos se realizaron estudios acerca del resto de los compuestos. (9)

Actualmente después de muchos años esta planta vuelve a coger popularidad ya que la asociación médica estadounidense indico que las pruebas para demostrar lo efectos nocivos son insuficientes. En el año 2013 Uruguay fue el primer país en legalizar la marihuana con fines recreativos, y en el 2018 Canadá fue el segundo en tomar las mismas

medidas, en la actualidad una gran cantidad de países alrededor del mundo han legalizado el uso de la marihuana, pero en su mayor parte con fines medicinales. (37)

En la **Figura 1.1.** Se puede observar los países en los que la marihuana es legal y donde puede ser usada medicinal o recreativamente.



Figura 1.1. ¿En dónde es legal la marihuana? (43)

1.1 CARACTERÍSTICAS DE LA PLANTA DE CANNABIS

En 1753 la planta fue descrita por primera vez por el sueco Carl Von Linneaus quien se encarga de describir tres subespecies: (11)

- 1) *Cannabis Sativa*
- 2) *Cannabis Indica*
- 3) *Cannabis Ruderalis*

Siendo la primera la más cultivada debido a que presenta una mayor cantidad de resina que produce un efecto sedante y relajante; la segunda produce menor cantidad de resina, pero tiene un efecto más psicoactivo la última tiene bajo contenido de cannabinoides y su fibra se utiliza en la industria textil. (7)

En la Figura 1.2. se explica detalladamente la Taxonomía de la *Cannabis*.

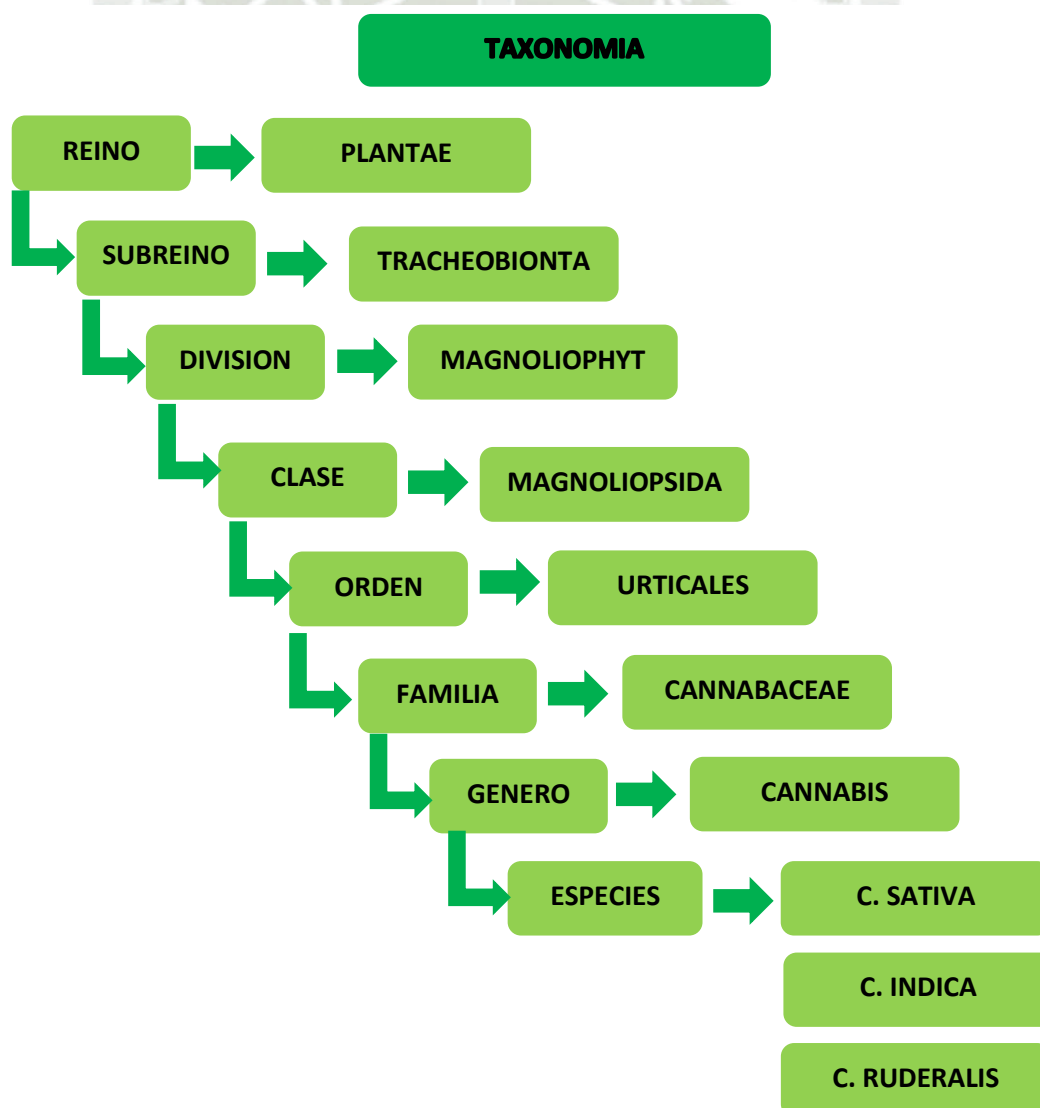


Figura 1.2. Taxonomía de la planta de cannabis

La *Cannabis Sativa* es la más famosa debido a la cantidad de componentes que presenta; además tiene un alto contenido de CBD con niveles bajos de THC lo que justamente permite producir productos con CBD. La *Cannabis sativa* pertenece al grupo de plantas domésticas al este de Asia principalmente en la China. (11)

La *Cannabis Indica* contiene una menor cantidad de componentes a diferencia de la *Cannabis Sativa* y tiende a tener un alto contenido de THC. La *Cannabis Indica* fue domesticada en Asia central meridional principalmente en la India. (11)

En cuanto a la *Cannabis Ruderalis* no necesita de la exposición al sol para poder florecer, naturalmente tiene un alto contenido de CBD y aproximadamente un 3% de THC lo que indica un porcentaje más alto que la *Cannabis Sativa*. La *Cannabis Ruderalis* fue domesticada al sur de Asia en Afganistán y países vecinos. (11)

La *Cannabis Sativa* se reproduce mediante semillas, es una eudicotiledónea y puede adaptarse sustratos áridos y fértiles.

La siembra se realiza al inicio de la primavera y empieza con la germinación de las semillas y el desarrollo floral es durante dos o tres meses dándose la cosecha a principios del otoño. (7)

Generalmente esta planta mide 4 metros, sin embargo, dependiendo de su cultivo puede llegar a medir hasta 7 metros de alto. Es fácil distinguir al macho de la hembra debido que, al ser una especie dioica, la planta femenina es de mayor envergadura que la planta macho. (7)

Las características morfológicas y sobre todo químicas de la planta varían dependiendo de su forma de cultivo, humedad, temperatura y luz.

En el caso de que la planta crezca en un ambiente templado, llegará a tener bajos niveles de THC, al contrario, cuando la planta es cultivada en un laboratorio suele contener elevados valores de THC. (7)

Cuando la planta termina su floración se cosechan cogollos para evitar la pérdida de resina, entre los compuestos que se encuentra tenemos terpenos, flavonoides, estilbenos, amidas fenólicas, lignanamidas, alcaloides y cannabinoides. (7)

Hay especies que pueden presentar una concentración mayor de algún cannabinoide específico lo cual dependerá del propósito o el fin al que será sometido la planta, existiendo ejemplares con mayor CBD y bajo THC y viceversa. (11)

En la Tabla 1.1. se detalla la lista de especies de la *Cannabis L.*, catalogadas desde la base de datos “Tropicos”.

Tabla 1.1. Especies catalogadas del género *Cannabis L.*

LISTA DE ESPECIES

Cannabis chinensis Delile
Cannabis faetens Gilib.
Cannabis indica Lam.
Cannabis lupulus Scop.
Cannabis x intersita Soják
Cannabis ruderalis Janisch.
Cannabis americana Pharm. exWehmer
Cannabis errática Siev.
Cannabis generalis E.H.L. Krause
Cannabis gigantea Crevost
Cannabis intersita Soják
Cannabis kafiristanica (Vavilov) Chrtek
Cannabis macrosperma Stokes
Cannabis sativa L.
Cannabis sinensis Delile

En la Tabla 1.2. se detallan las variedades de subespecies de la *Cannabis Sativa L.*, catalogadas desde la base de datos “Tropicos”.

Tabla 1.2. Subespecies de Cannabis Sativa L.

VARIEDADES DE SUBESPECIES

Cannabis sativa subsp. indica (Lam.) E. Small&Cronquist

Cannabis sativa subsp. intersita (Soják) Soják

Cannabis sativa subsp. spontanea Serebr.

Cannabis sativa var. aspérrima (Regel) McPartl. & E.

Small

Cannabis sativa fo. afghanica Vavilov

Cannabis sativa fo. chinensis (Delile) A. DC.

Cannabis sativa var. crispata Hassk.

Cannabis sativa var. gigantea Alef.

Cannabis sativa var. himalayensis (Cazzuola) McPartl. &

E. Small

Cannabis sativa var. indica (Lam.) E. Small&Cronquist

Cannabis sativa var. kafiristanica (Vavilov) E.

Small&Cronquist

Cannabis sativa var. kif A. DC.

Cannabis sativa var. macrosperma (Stokes) Asch.

&Graebn.

Cannabis sativa var. monoica Hol.

Cannabis sativa var. narcotica Serebr.

Cannabis sativa fo. pedemontana A. DC.

Cannabis sativa var. praecox Serebr.

Cannabis sativa var. ruderalis Janisch.

Cannabis sativa var. ruderalis (Janisch.) S.Z. Liou

Cannabis sativa var. Sativa

Cannabis sativa var. espontánea Vavilov

Cannabis sativa var. Sativa

Cannabis sativa var. spontanea Vavilov

En la Tabla 1.3. se detallan las variedades de subespecies de la *Cannabis Indica L.*, catalogadas desde la base de datos “Tropicos”.

Tabla 1.3. Subespecies de Cannabis Indica L.

VARIEDADES DE SUBESPECIES
<i>Cannabis indica var. kafiristanica</i> Vavilov
<i>Cannabis indica fo. afghanica</i> (Vavilov) Vavilov

1.2 CANNABINOIDES

Los metabolitos que más abundan en la planta son los cannabinoides de los que se conocen 113. Son compuestos terpeno-fenólicos de 21 átomos de carbono que se encuentran únicamente en el cannabis. Los más estudiados son el CBD y THC, los cuales al estar contenidos en la planta se encuentran en su forma ácida como CBDA y THCA, debido a esto si una persona consume la planta cruda no se narcotiza, estos compuestos de naturaleza ácida son los que darán origen al CBD y THC mediante el proceso de descarboxilación, lo cual se produce al momento de aplicar calor. (8) (38)

En las siguientes figuras; **1.3** y **1.4**. Se pueden observar las moléculas de THC y CBD respectivamente, ambas moléculas, son isómeras debido a que comparten la misma fórmula molecular ($C_{21}H_{30}O_2$), pero la disposición de los átomos es diferente, es por esta razón que ambas moléculas tienen efectos farmacológicos distintitos.

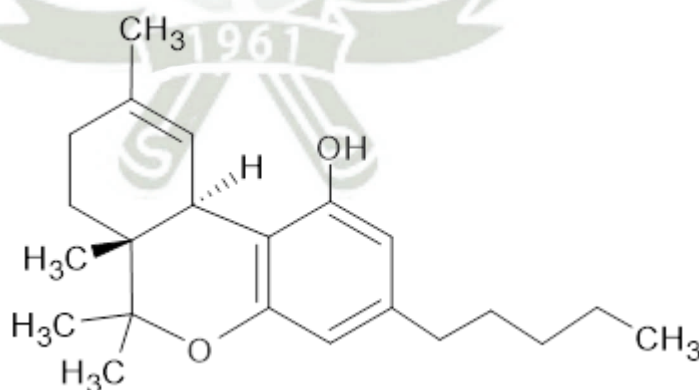


Figura 1.3.: Estructura del Delta-9-Tetrahidrocannabinol.

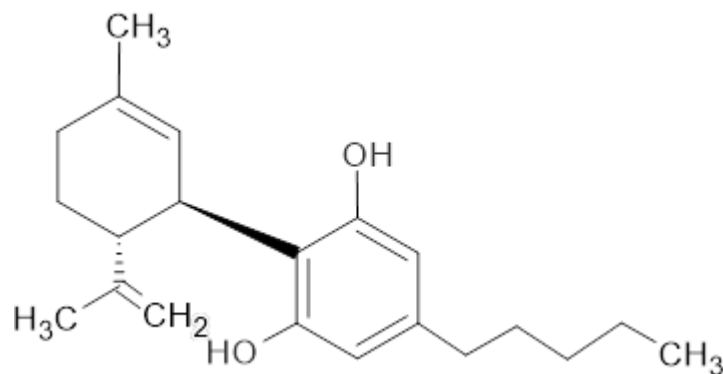
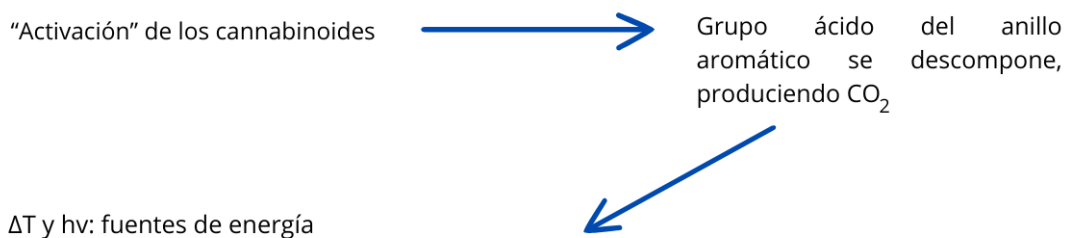


Figura 1.4.: Estructura del Cannabidiol.

A continuación, en la **Figura 1.5** se puede observar la descarboxilación de CBDA a CBD que se produce por la aplicación calor.



Descarboxilación

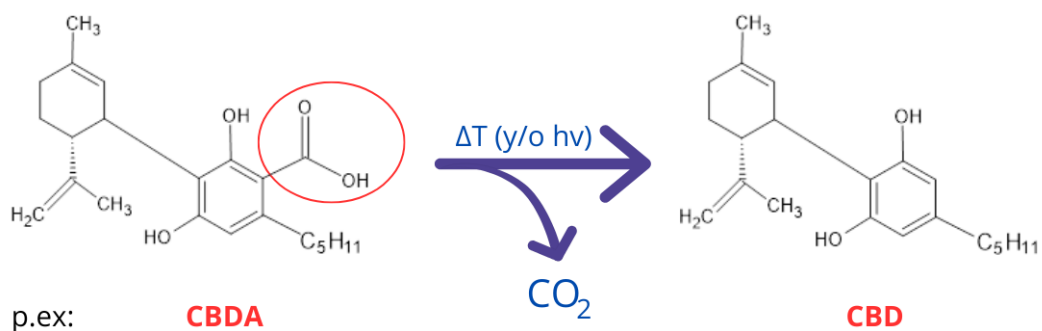


Figura 1.5.: Descarboxilación de CBDA a CBD.

1.3 FARMACODINAMIA

El cannabis al tener una acción sedante puede ocasionar interacciones farmacodinámicas con medicamentos depresores del SNC (fármacos sedantes o hipnóticos).

En general, el THC produce efectos psicóticos, alteración de la percepción, ansiedad y déficits cognitivos en pacientes sanos; y los cannabinoides en general pueden inducir a la taquicardia y causar toxicidad cardiaca en el caso de un consumo en conjunto con amfetaminas, cocaína, atropina u otros agentes simpaticomiméticos.

El CBD está relacionado con casos de fatiga y somnolencia, mientras el THC está asociado con efectos psicotrópicos y cardiovasculares, que pueden ser disminuidos con la administración conjunta de CBD. (13)

1.4 FARMACOCINÉTICA

Esta dependerá de la vía de administración, los cannabinoides pueden administrarse de manera oral, sublingual, intramuscular e intravenosa, la principal forma de administración es fumada, por la inhalación de vapor pudiéndose detectar en sangre entre 1 o 2 minutos después de la primera calada con un 10 a 25 % del contenido de THC presente en el cigarro, alcanzando la mayor concentración en sangre entre 3 a 10 minutos, los efectos se inician a los pocos segundos y pueden durar de 2 a 3 horas, la vida media de eliminación es entre 25 a 36 horas. Si se fuma un cigarrillo, este puede ser detectado en la orina una semana después, los pacientes crónicos pueden salir positivos luego de un mes sin consumirla. La biodisponibilidad del THC oscila entre el 10% y 35% mientras que la del CBD es de 31%. (13, 14, 39)

El THC y el CBD son altamente lipofílicos, atraviesan con facilidad las barreras hematoencefálica, placentaria y mamaria, se une al 95 % de las proteínas plasmáticas y por consecuencia se deposita en la grasa corporal, hígado y pulmones; presenta una cinética multicompartimental, su metabolización es hepática principalmente en el sistema microsomal CYP450. (39)

Tiene poca disponibilidad oral, de casi el 6%, no sobrepasa el 10% debido a que se destruye en el estómago y al efecto del primer paso hepático, alcanzan la mayor concentración en sangre entre las 2 y 4 horas después de su administración; los efectos inician entre 30 minutos y 2 horas, y pueden durar hasta 6 horas después de la ingesta,

por esta razón las formulaciones orales son útiles para pacientes que necesitan un alivio sintomático por un prolongado periodo de tiempo. (39)

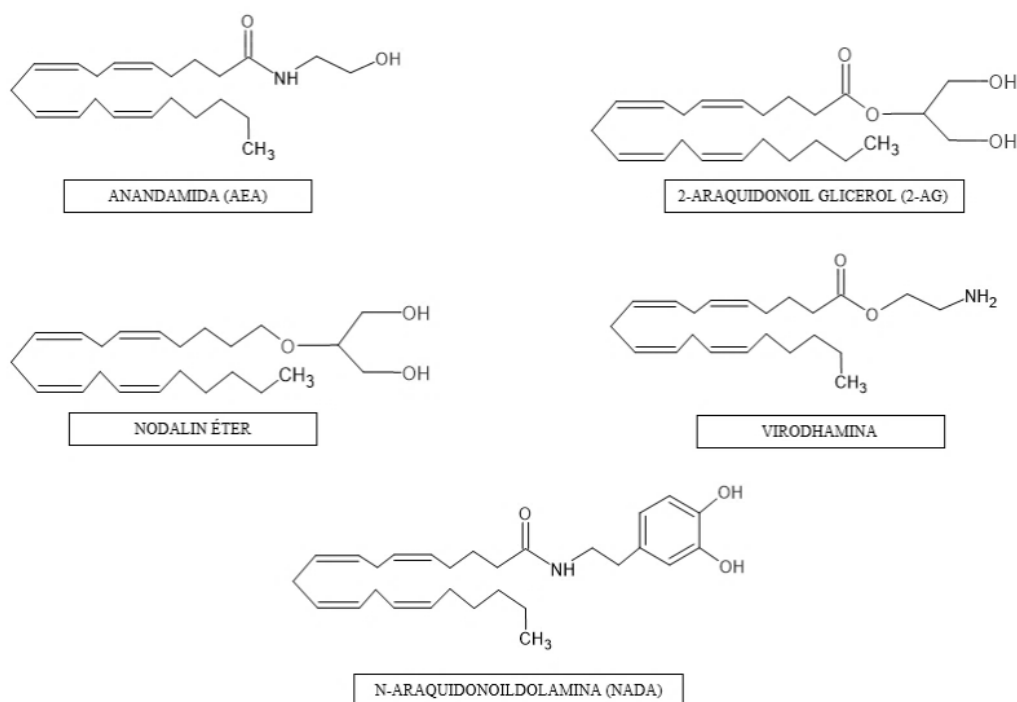
La distribución de los cannabinoides suele ser rápida, aunque esto varía dependiendo del tamaño, composición corporal o estados patológicos en los que se encuentre el paciente. Dependiendo del uso los cannabinoides se pueden almacenar en el tejido adiposo lo que conlleva a una actividad cannabinoide que pueda durar incluso semanas. (39)

1.5 MECANISMO DE ACCIÓN

Los receptores endocannabinoides CB1 y CB2 fueron descubiertos en el siglo pasado a mediados de los noventa, la existencia de un sistema fisiológico con receptores distribuidos por todo el organismo reflejó la importancia y el impacto que pueden tener estas sustancias en el cuerpo humano.

Existen los cannabinoides endógenos, que son moléculas que produce el ser humano, de naturaleza lipídica y derivados de ácidos grasos que se unen a los receptores de cannabinoides en nuestro cuerpo, es así como podemos nombrar a los principales endocannabinoides que se unen a los receptores endocannabinoides que tenemos en nuestro interior como la *Anandamida* ($C_{22}H_{37}NO_2$) o *N-araquidonoiletanolamina* (AEA), *2-araquidonoil glicerol* (2-AG) ($C_{23}H_{38}O_4$) ambos derivados del ácido araquidónico, *Noladin eter* o *2-araquidonil gliceril éter* ($C_{23}H_{40}O_3$), *Virodhamina* ($C_{22}H_{37}NO_2$) y *N-araquidonoildolamina* (NADA) ($C_{28}H_{38}NO_3$); en la figura 1.6. y 1.7. se observan las estructuras químicas de los principales cannabinoides endógenos.

Figura 1.6. Estructuras químicas de los principales cannabinoides endógenos.



En el caso de los receptores CB1, se encuentran presentes principalmente en el sistema nervioso central y en menor medida en tejidos periféricos y sistema inmune.

El CB2 se encuentra en mayor medida a nivel periférico y se vincula al sistema inmunológico.

Por lo mismo, la mayoría de las acciones relacionadas al sistema nervioso central están asociadas al estímulo de receptores CB1, aun así, el papel de CB2 también es fundamental ya que está asociada a las acciones de proliferación celular. (15)

1.5.1 SISTEMA ENDOCANNABINOIDE

El sistema endocannabinoide influye en los tres sistemas esenciales de regulación fisiológica; el sistema endocrino, el sistema inmune y el sistema neurotransmisor

Se da a partir de los terminales sinápticos, estos funcionan básicamente cuando existe una señal eléctrica de la neurona presináptica que se transfiere a la neurona postsináptica, se como se muestra a continuación: (15)

En la **Figura 1.7** Se observa que una vez que los neurotransmisores son liberados de la membrana presináptica, se unen a los receptores de membrana, lo cual crea una señal que se transmite a la siguiente neurona.

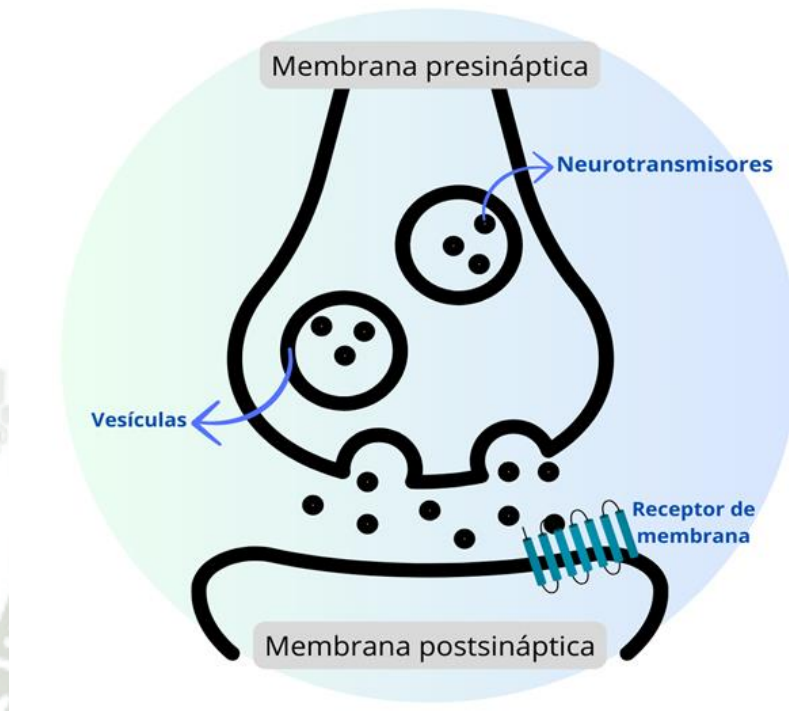


Figura 1.7. Función de los terminales sinápticos.

El Sistema Endocannabinoide funciona en sentido retrogrado, es decir, las enzimas de síntesis de la membrana fosfolipídica postsináptica (NAPE y DAGL) van a sintetizar a demanda las moléculas de Anandamida (AEA) y 2-araquidonoil glicerol (2-AG), las cuales irán a la membrana presináptica y activarán el receptor CB1, en este caso, que a su vez inhibirán la liberación de las vesículas, como se muestra en la siguiente figura (15):

En la **Figura 1.8.** Se aprecia que, NAPE y DAGL, sintetizan en la membrana fosfolípídica a AEA y 2-AG, que activan los receptores CB1 lo que inhibe la liberación de vesículas. FADH y MAGL son enzimas de degradación.

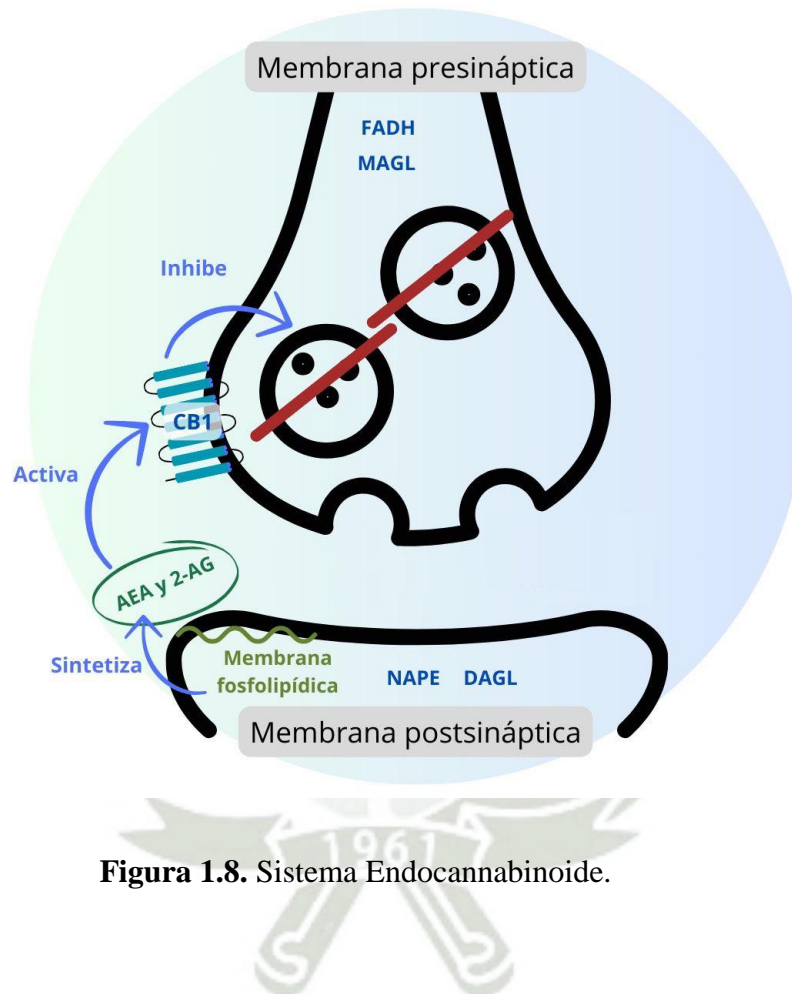


Figura 1.8. Sistema Endocannabinoide.

En pocas palabras el Sistema Endocannabinoide controla la comunicación de neurotransmisores entre neuronas.

En el caso de los cannabinoides proporcionados por el consumo de cannabis, estos se unirían de la misma manera a los receptores presinápticos de manera directa e inhibirán la liberación de vesículas a la membrana postsináptica tal y como se observa en la figura **Figura 1.9.** (15)

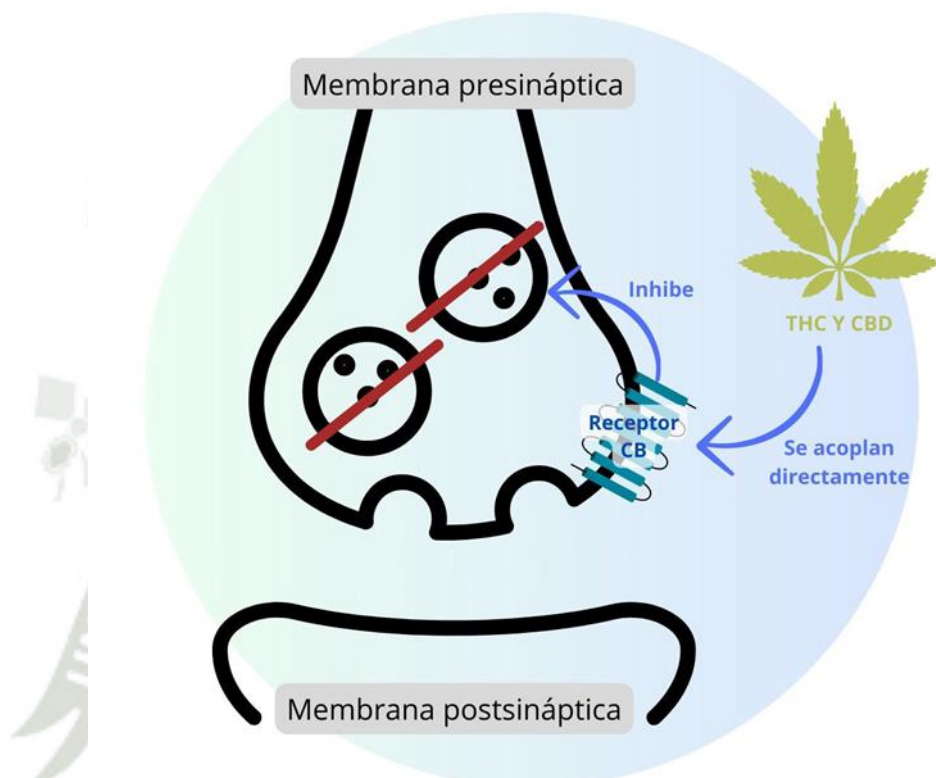


Figura 1.9. Acoplamiento de THC y CBD a los receptores de cannabinoides.

2 LEGISLACIÓN Y COMERCIO DE CANNABIS MEDICINAL

La Ley 30681 es la encargada de regular y permitir el acceso (exclusivamente medicinal y terapéutico) de cannabis y sus derivados, así como su investigación, el uso informado, producción, importación y comercialización. (16)

Dicha Ley fue dada a conocer por el periódico “El Peruano” el 17 de noviembre del 2017, en la cual se creó el Registro de Pacientes Usuarios de Cannabis, en donde debe encontrarse la información de la enfermedad del paciente, el médico tratante, la dosis y la frecuencia del tratamiento. A su vez se crearon tres registros:

- 1) Registro de Personas naturales o jurídicas importadoras y/o comercializadoras.
- 2) Registro de entidades de investigación.
- 3) Registro de entidades públicas y laboratorios autorizados a su producción.

Además, se crearon diferentes licencias que están a cargo del Poder Ejecutivo:

- 1) Licencia para la investigación científica.

- 2) Licencia para la importación y/o comercialización.
- 3) Licencia para la producción.

Fue el 23 de febrero del 2019, que se aprobó el reglamento de la Ley 30681 que modifica las listas (IA, IB, IIA, IVA) del anexo 2 del Reglamento de Estupefacientes mediante el Decreto Supremo N° 005-2019-SA, en el cual se da una descripción de la planta de cannabis. Se describe como cannabis psicoactivo a la planta con un porcentaje de THC $\geq 1\%$ en peso seco, mientras que en el cannabis no psicoactivo el porcentaje de THC $< 1\%$ en peso seco (cualquier parte de la planta).

También se habla sobre los derivados de cannabis, sobre el preparado farmacéutico, sobre el producto farmacéutico derivado del cannabis, sobre las autoridades que lo controlan. Además, del proceso de registro nacional de pacientes usuarios de cannabis. (1)

No fue hasta el 28 de febrero del 2023 que se dieron cambios en el reglamento debido a la Ley 31312 y el Decreto Supremo N° 004-2023-SA, en la cual se estipulan los siguientes cambios:

- 1) Se incorporan los artículos 3-A y 8-A, en el cual se destaca en el artículo 3-A la definición de producción artesanal con cultivo asociativo. Se dice sobre producción artesanal con cultivo disociativo, sobre asociaciones formadas con únicamente pacientes inscritos en el Registro de Pacientes Usuarios de Cannabis, o sus apoyos/representantes legales, los cuales pueden ser constituidos por una o más personas.

En cuanto al Artículo 8-A, se habla sobre la licencia para producción artesanal con cultivo asociativo, se explican los requisitos, los cuales están a cargo del Ministerio de Salud. Además, se explica que la identidad encargada de aprobar el protocolo de Seguridad es la Dirección Antidrogas de la Policía Nacional del Perú.

- 1) Además, se modifica los artículos 3, 4 y 5 de la Ley 30681, en donde se informa acerca de autorizaciones (artículo 3), registro (artículo 4), y licencias (artículo 5).
- 2) Por último, se modifica el cuarto párrafo del artículo 296-A que trata sobre la comercialización y cultivo de amapola y marihuana y su siembra compulsiva. (2,17)

2.1 NORMATIVIDAD NACIONAL SOBRE CANNABIS

- 1) Documento Técnico: Orientaciones para el uso medicinal del Cannabis y sus derivados (R.M. N° 1120-2019/MINSA).
- 2) Ley 30681: Ley que regula el uso medicinal y terapéutico del cannabis y sus derivados.

- 3) Ley 31312: Ley que incorpora y modifica artículos de la ley 30681 y el reglamento.
- 4) Decreto Supremo N° 005-2019-SA.
- 5) Decreto Supremo N° 004-2023-SA.
- 6) Resolución Ministerial N° 1120-2019-MINSA que aprueba el Documento Técnico: Orientaciones para el uso medicinal del cannabis y sus derivados. MINSA.
- 7) Resolución Jefatural N.° 0282-2019-INIA.
- 8) Resolución Ministerial N.° 0433-2019-MINAGRI.
- 9) Resolución Directoral N° 0022-2019-MINAGRI-SENASA-DSV.
- 10) Resolución Directoral N.° 0021-2019- MINAGRI-SENASA-DSV.
- 11) Resolución Ministerial N° 0036-2024/MINSA. (16)

3 CANNABIS MEDICINAL

Tenemos que considerar que el cannabis medicinal ha generado bastante interés científico y terapéutico durante los últimos años, es por lo que se generan investigaciones para evaluar su eficacia.

También se puede demostrar su eficacia como un tratamiento complementario para la epilepsia según el artículo "Evidence for cannabis and cannabinoids for epilepsy: a systematic review of controlled and observational evidence", que buscó evaluar la efectividad de los cannabinoides, en particular el Cannabidiol, en donde se identificaron 36 estudios: 6 ensayos controlados aleatorios (RCTs) y 30 estudios observacionales. Los estudios mostraron que el CBD a 20 mg/kg/día es más efectivo que el placebo para reducir la frecuencia de las convulsiones en un 50% o más y para lograr la libertad total de convulsiones, la calidad de vida también mejoró con el uso de CBD en comparación con el placebo. (19)

3.1 RIESGOS DERIVADOS DEL CONSUMO DE CANNABIS

Si bien los cannabinoides pueden tener efectos beneficiosos para la salud, su uso descontrolado o desmedido pueden ser un riesgo para los consumidores y afectar a las personas con las que se rodean al momento de fumar, en el caso de la seguridad vial fumar un cigarro de marihuana ocasiona una respuesta motora lenta teniendo presente las variaciones individuales y el contenido del cigarrillo. Lo que por consecuencia puede

terminar en un accidente de tránsito así que se debería de realizar pruebas parecidas a las de alcoholemia.

Existe el riesgo de que los consumidores puedan desarrollar enfermedades psiquiátricas por el sube y baja de emociones, las alucinaciones y delirios. Respecto al embarazo no existe información suficiente, si bien hay una relación entre el consumo de cannabis y el bajo peso al nacer, esto puede deberse a la inhalación de monóxido de carbono que se produce en la combustión de este. (20)

Es en el sistema nervioso central donde se generan la mayoría de los efectos deseados como los no deseados del cannabis, psicológicamente, sus efectos se manifiestan en dos fases: primero, genera risa, euforia, bienestar y a veces ansiedad, luego conduce a una fase de sedación, somnolencia y relajación. Además, puede causar dificultad para la concentración, atención y puede afectar la memoria reciente. Con una dosis de 5 mg, estos efectos suelen ser leves, pero su intensidad varía según la concentración. Con dosis más altas y dependiendo de factores individuales y sociales pueden aparecer sensaciones de malestar, ansiedad, paranoia y pánico, que tienden a desaparecer en unas pocas horas. En casos de intoxicación aguda, la marihuana puede inducir episodios psicóticos que se manifiestan con los siguientes efectos; agitación, delirios, embrollo, amnesia, ansiedad y alucinamiento.

Se ha observado que el uso prolongado de dosis diarias de marihuana genera cambios cognitivos que incluyen alteraciones en la concentración, memoria, dificultades en la resolución de problemas, ralentización de la velocidad motora. Estos efectos, son similares a los de las benzodiazepinas y el alcohol, suelen ser reversibles en un período variable de 28 a 42 días tras la suspensión total del consumo. Así como también aumenta el riesgo de desarrollar trastornos mentales. No obstante, estos cambios en la función neurocognitiva tienden a ser más pronunciados y menos reversibles si el consumo comienza a una edad temprana (antes de los 18 años). Varios estudios sugieren una asociación entre el consumo de cannabis durante la etapa escolar y problemas académicos, dificultades para completar estudios o ingresar a la universidad. Es importante tener en cuenta que el uso de psicofármacos en menores de 18 años conlleva riesgos que estamos empezando a comprender. Los nuevos antipsicóticos atípicos pueden causar síndrome metabólico y en personas mayores pueden incrementar el riesgo de accidentes cerebrovasculares, mientras que el uso de benzodiazepinas en la vejez puede aumentar notablemente el riesgo de deterioro cognitivo. Mencionamos estos aspectos para resaltar dos puntos: primero, estamos entendiendo los riesgos de estos medicamentos y debemos hacer lo mismo con la

marihuana y segundo, para evitar demonizar su uso, ya que otros medicamentos también presentan riesgos significativos que merecen nuestra atención.

En el caso de esclerosis múltiple, reduce la espasticidad según un estudio publicado en la “Revista Internacional de Cuidado de la EM”, proporciona como resultados el alivio de los síntomas con el consumo de cannabis medicinal, en donde el 72% de los pacientes obtuvo una mejora en el dolor, 48% en la espasticidad muscular y un 40% logró una mejora en la conciliación del sueño. (18)

Las contraindicaciones para las terapias con cannabinoides incluyen enfermedades psiquiátricas, cardiovasculares, renales o hepáticas significativas. (13)

3.2 ACEITE PORTADOR

Un aceite portador es aquel de origen vegetal utilizado como base para diluir extractos de plantas o aceites esenciales, su función principal es "transportar" el ingrediente activo y facilitar su absorción en el cuerpo, además de reducir la concentración para evitar irritaciones y mejorar la distribución del producto. Los aceites portadores comunes incluyen el aceite de coco, el aceite de almendra, el aceite de oliva y el aceite de semilla de cáñamo. (21)

Los aceites portadores se emplean para diluir extractos de compuestos como el CBD y THC, gracias a ello su dilución puede ofrecer múltiples beneficios como los que se muestran a continuación:

- a) **Mejora la absorción:** Debido a que los cannabinoides son lipofílicos, se disuelven efectivamente en grasas, es por ello que un aceite portador facilita la absorción de los cannabinoides en el organismo. (22)
- b) **Aumenta la biodisponibilidad:** La biodisponibilidad se refiere a la cantidad de un compuesto que entra en la circulación y está disponible para ser utilizado. Un aceite portador puede mejorar la biodisponibilidad de los cannabinoides. (23)
- c) **Facilidad de uso:** La combinación de cannabinoides con un aceite portador facilita y hace más conveniente su consumo o aplicación tópica. (24)

3.3 POSOLOGÍA DEL ACEITE DE CANNABIS

La posología del aceite de cannabis varía dependiendo de los factores que condicionan al paciente, o la concentración de los cannabinoides, además de recomendaciones del médico.

Por lo general para nuevos pacientes, que nunca han consumido cannabis, deben empezar con una dosis baja y luego subirla lentamente. Los pacientes podrían llegar a necesitar solo entre el 0.1 y el 0.5 % de la dosis inicial.

En cuanto a los pacientes que no son nuevos, se debe tener en cuenta la tolerancia y la acumulación de THC en depósitos de grasa para su dosificación. (25)

La manera de administración oral es por medio de gotas o fracciones de mililitros, esto al conocerse el porcentaje de THC/CBD, ya que de esta manera se puede calcular la dosis a administrar.

En el caso de que el paciente se esté administrando productos con CBD, la dosis debe aumentarse cada 2 o 3 días, dependiendo de la tolerancia que se muestre. Sin embargo, en el caso de que dichos productos contengan THC, el aumento debe ser de 3 a 5 días, y en el caso de que se estén generando efectos secundarios leves, el paciente debe seguir con la dosis hasta que dichos efectos se vuelvan tolerables, y de esta manera poder incrementarla (26)

4 CONTROL DE CALIDAD DE CANNABIS EN PERÚ

La supervisión del control de calidad de cannabis en Perú es un proceso estricto y fundamental que garantiza la seguridad de los productos derivados. En Perú es el Instituto Nacional de Salud la entidad encargada de este control, realizando análisis de calidad de productos derivados de cannabis, para poder comprobar la concentración de cannabinoides tales como THC y CBD, además de la presencia de contaminantes. (27)

Sin embargo, en el caso de los cultivos artesanales aún se precisa de un mejor marco regulatorio para seguir con los análisis. Es por lo que su control se suele enfocar en la materia prima, ya que de esta manera se facilita la obtención de licencia de producción.

La disponibilidad de laboratorios acreditados en el país también es un tema importante para resaltar, ya que muchos pequeños productores tienen que optar por obtener los certificados necesarios en laboratorios extranjeros. (28)

5 EXTRACCIÓN DE CANABINOIDES Y ACEITES DE MARIHUANA

Existen diferentes tipos y métodos para la extracción de cannabinoides como los siguientes:

5.1 EXTRACCIÓN CON DISOLVENTE

El proceso de extracción con disolvente consiste en el paso de un disolvente por el material vegetal, se pesa el material vegetal, se añade el disolvente, se sónica por 30 minutos, se evapora el disolvente con ayuda de una plancha de calentamiento, se añade carbón activado y se filtra. (12)

5.2 EXTRACCIÓN POR ARRASTRE DE VAPOR

Dicho proceso consiste en la destilación del material vegetal con vapor de agua, primeramente, se pesa el material vegetal, el cual se introduce en un balón de destilación añadiéndose agua, se debe conectar el balón a un condensador y se calienta hasta la ebullición del agua, el condensador se encargará de enfriar el vapor para poder recolectarlo, al destilado de le añade sulfato de sodio anhidro y finalmente de filtra. (12)

5.3 EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA

El aceite de cannabis puede ser extraído con CO₂ supercrítico, con el fin de separar THC y CBD del resto de componentes, puede realizarse en frío o en caliente. (12)

5.3.1 EXTRACCIÓN EN FRÍO

La selectividad es su principal ventaja, facilitando el proceso de purificación, la extracción en frío consiste en utilizar medio mecánicos, ya que no se utilizan solventes químicos no se encuentran contaminantes ni residuos orgánicos. (12)

5.3.2 EXTRACCIÓN EN CALIENTE

Con este método existe una mejor disolución de los principios activos, y se obtiene un rendimiento mejor debido al empleo de etanol, lo más común es la extracción en el equipo Soxhelt. (12)

5.4 ELABORACIÓN DE ACEITES DERIVADOS DEL CANNABIS

Para poder extraer cannabinoides de la planta, es importante escoger un método adecuado y se debe de tomar en cuenta los siguientes factores: la temperatura, presión, tiempo de extracción y el disolvente a usar, ya que, de no ser así, en el proceso se podrían presentar modificaciones químicas en los componentes a extraer. (29)

Lo más importante es tener en cuenta las partes y variedades de la planta que se utilizarán para que así se pueda asegurar la concentración y el tipo de cannabinoide que se quiere aislar, ya que según la variedad de planta en el contenido y tipo de cannabinoide presente en el aceite puede. (8)

5.5 ACEITE DE CANNABIS

El aceite de cannabis es un producto resinoso y pegajoso que se obtiene al remover el solvente de los extractos que contienen cannabinoides estos son generalmente de las inflorescencias popularmente llamadas cogollos, para su preparación se utilizan diferentes solventes como el butano, alcohol isopropílico, hexano o etanol siendo el último el más común y tradicional.

La tintura de cannabis suele ser la presentación más antigua. (30)

5.6 ACEITE DE CAÑAMO

Generalmente se obtiene mediante métodos mecánicos como la presión en frío de las semillas de cáñamo, teniendo una composición distinta al aceite de cannabis, la palabra cáñamo generalmente se utiliza para planta que tienen baja concentración de THC. (30)

5.7 ACEITE ESCENCIAL

Este se puede extraer por arrastre de vapor con agua de las flores, también tiene una composición distinta a los otros aceites y generalmente es producido y distribuido en países de Europa como Francia. (30)

6 CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICACIA (HPLC) Y CANNABINOIDES

6.1 CROMATOGRAFÍA

Para la identificación y cuantificación de los cannabinoides se requiere de procesos cromatográficos, la cromatografía tiene como principio la separación de sustancias mediante el reparto existente de una fase móvil y otra fase estacionaria, dicha separación dependerá de las propiedades físicas y químicas de cada una de las fases y la sustancia a separar, también existen otros factores que pueden interferir, como es el tamaño, la

hidrofobicidad y la carga eléctrica de las moléculas, la fase móvil percola en la fase estacionaria. (31)

6.2 CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICACIA (HPLC) Y SUS COMPONENTES

La cromatografía Líquida de Alta Eficacia o HPLC es un tipo de técnica analítica que permite separar mezclas para su identificación, cuantificación y purificación, por esa razón puede ser usado para distintos fines como en la investigación, en control de calidad, detección de metabolitos, empleada generalmente en el análisis química, bioquímico y clínico.

Se debe destacar del uso de HPLC su versatilidad y selectividad, sin embargo, es de alto costo, pero efectiva. (32)

La HPLC es efectiva en cuanto al análisis de cannabinoides ya que no interfiere en su estructura. En dicha técnica se usa una fase móvil y otra estacionaria inmiscibles entre sí y la muestra a analizar.

Constantemente se está en la búsqueda de mejoras en cuanto a los métodos de análisis de cannabinoides usando HPLC, se dan investigaciones que traten de hacer estos métodos mucho más prácticos, por ejemplo, en una investigación del 2019, se publicó un artículo en la revista “molecules” en donde se determinaron 10 cannabinoides de manera cuantitativa a una longitud de onda de 220 nm en solo 8 minutos usando RP-HPLC UV/VIS. (33)

A continuación, se hace un listado de los componentes del equipo HPLC:

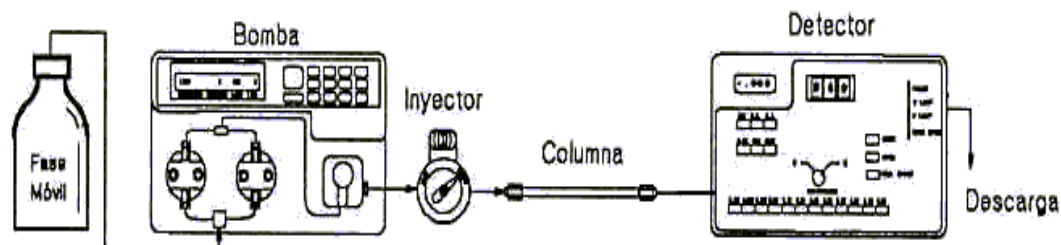


Figura 1.10. Componentes del equipo HPLC Fuente: Jaime Valls Puig

A. FASE MÓVIL

La fase móvil suele estar contenida en un frasco de laboratorio, generalmente suelen ser de vidrio, tienen capacidad de 500 mL, 1L y 2L, pero el más usado es el de litro, puede haber más de una fase móvil dependiendo si se utilizara una gradiente o un flujo isocrático. (10)

B. BOMBA

Este componente se encarga de la obtención de caudales o flujos de 0.1 a 10 mL/min trabajando a presiones de 400 bar o 6000 psi. (10)

C. INYECTOR

Permite la incorporación de la muestra a la fase móvil, manteniendo la presión de la bomba, permiten variar el volumen de inyección, según los requerimientos necesarios. En la actualidad son automáticos, pero antiguamente eran manuales. (10)

D. COLUMNA

Es donde ocurre la separación cromatográfica suelen tener una longitud entre 10 y 30 cm y un diámetro entre 4 a 5 mm suelen ser recubiertas de acero inoxidable ya que este es un material inerte y resistente a las altas presiones.

La cromatografía de fase reversa cuenta con columnas específicas, las cuales son llamadas columnas de fase reversa debido a, que la cadena funcional R tiene carácter hidrófobo (apolar). Dicha cadena suele ser C8 (n-octil) o C18(n-octadecil). No se utiliza eluyente con pH mayor a 7.5 debido que puede generar la hidrólisis de los grupos siloxano, la elución de los componentes en la fase reversa es de más polar a menos polar, la fase móvil suele tener carácter polar. (10)

E. DETECTOR

Los detectores sirven para cuantificar e identificar los componentes separados por la columna, los cuales tienen una función específica según la tarea que se realizara, existen varios tipos de estos. (10)

F. DESCARGA

Aquí se descarga lo datos obtenidos para su análisis, generalmente suelen estar conectados a un computador donde se procesará la información por diferentes softwares. (10)

6.3 GRÁFICO DE CALIBRACIÓN

Se emplea para el análisis químico cuantitativo, también se suele nombrar curva patrón, debido al uso de soluciones de concentración conocida para su elaboración. Para la calibración analítica se construye un modelo lineal ajustado a partir de una serie de n puntos experimentales, donde cada punto se encuentra definido por la concentración como variable x y una variable y . Se requieren por los menos cinco lecturas o datos para que el gráfico sea confiable, que la variabilidad sea mínima y el intervalo lineal sea suficiente; sin embargo, entre más datos se obtengan la confiabilidad será mayor. (36)

6.4 CORRELACIÓN Y REGRESIÓN LINEAL

La correlación y regresión lineal son técnicas estadísticas para el estudio de la relación entre dos o más variables continuas. La correlación evalúa si existe una asociación entre variables, la intensidad de dicha asociación se mide por el coeficiente de relación lineal o coeficiente de correlación lineal de Pearson. La regresión simple tiene como objetivo encontrar la ecuación de regresión lineal para poder determinar el valor Y apenas se conozca el valor X , como se muestra en la siguiente ecuación.

$$y = a + b x$$

Donde:

y: Variable dependiente

a: Origen de la ordenada

b: Pendiente

x: Variable independiente

El coeficiente de correlación lineal es adimensional y matemáticamente se demostró que cumple la siguiente propiedad: $-1 \leq r \leq 1$

Cuando $r > 0$, existe una asociación lineal positiva entre las dos variables, lo que significa que, si el valor de una aumenta, el valor de la otra aumenta proporcionalmente.

Cuando $r < 0$, existe una asociación lineal negativa entre las dos variables, lo que significa que, si el valor de una aumenta, el valor de la otra disminuye proporcionalmente.

El valor $r = 0$ corresponde a la ausencia de asociación lineal entre las variables. La nube de puntos se distribuye a lo largo de una recta horizontal, o bien se distribuye a lo largo de otra figura geométrica distinta de la recta.

En general, cuanto más próximo a 0 es el coeficiente de correlación, menor asociación lineal hay en los datos, cuanto más se aproxima a 1 ó a -1 mayor es la asociación lineal (en sentido positivo o negativo, respectivamente). (35)

6.4 LÍMITE DE DETECCIÓN Y LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN

6.4.1 LÍMITE DE DETECCIÓN (LOD)

Es la concentración mínima del analito que puede ser identificada para un nivel de confianza dado. (34)

$$LOD = \frac{3.3 * S_{xy}}{b}$$

Donde:

LOD : Límite de detección

b : Pendiente de la recta de calibrado

S_{xy} : Error estándar

6.4.2 LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN (LOQ)

Es la concentración mínima del analito que puede ser cuantificado para un nivel de confianza dado. (34)

$$LOQ = \frac{10 * S_{xy}}{b}$$

Donde:

LOQ : Límite de cuantificación

b : Pendiente de la recta de calibrado

S_{xy} : Error estándar

6.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico se realizó mediante el empleo del programa Microsoft Excel para la determinación de la linealidad.

Prueba t-Student

La prueba t-Student se fundamenta en la distribución de normalidad, y en la independencia de las muestras. Permite comparar muestras, $N \leq 30$ o establece la diferencia entre las medias de las muestras. El análisis matemático y estadístico de la prueba con frecuencia se minimiza para $N > 30$, cuando la prueba tiene suficiente poder estadístico se utilizan pruebas no paramétricas. (40)





CAPITULO II MATERIALES Y MÉTODOS

1 LUGAR DE INVESTIGACIÓN

El presente trabajo fue realizado en las instalaciones del Laboratorio de Ensayo y Control de Calidad (LECC) de la Universidad Católica de Santa María.

2 MATERIALES

2.1 REACTIVOS QUÍMICOS

- a) Acetonitrilo para HPLC y espectroscopia.
- b) Methanol Honeywell (Riedel de Haën).
- c) Ácido Acético 0.5%.
- d) Agua ultrapura.
- e) Estándar de Cannabidiol C-045-1mL (1.0 mg/mL en 1mL de Metanol) (Cerilliant - Sigma Aldrich).
- f) Estándar de Delta-9-Tetrahidrocannabinol T-005-1mL (1.0 mg/mL en 1mL de Metanol) (Cerilliant - Sigma Aldrich).
- g) Aceite de oliva extra virgen (200mL) Olivos del Sur.

2.2 EQUIPOS DE LABORATORIO

- a) Equipo de Cromatografía Líquida de Alta resolución, modelo La Chrom Elite (Merck Hitachi).
- b) Bomba programable (Merck Hitachi).
- c) Detector DAD (Diode Array Detector) (Merck Hitachi).
- d) Columna Oven: Columna LiChrospher[®] 100 RP-18 (5 μ m) LiChroCART[®] 125-4 (Merck).
- e) Bomba de filtración al vacío de alto rendimiento (Millipore).
- f) Baño de ultrasonido de 2.8 Litros (Selecta).
- g) Balanza analítica de 220 g x 0.1 mg (A&D Weighing).
- h) Campana extractora de gases.
- i) Purificador de agua (Purelab).

2.3 MATERIAL DE LABORATORIO

- a) Micropipeta de 100-1000 μ L.
- b) Micropipeta de 50-500 μ L.
- c) Puntas para micropipeta 10-100 μ L.
- d) Puntas para micropipeta 100-1000 μ L.

- e) Fiolas 10 mL 5 mL.
- f) Pipetas de 5 mL.
- g) Propipeta.
- h) Beakers 50 mL 100 mL.
- i) Embudo de filtración al vacío.
- j) Viales ámbar para HPLC.
- k) Membrana GV (DURAPORE) 0.22 um de poro, 47 mm de diámetro, hidrofílica (Millipore).
- l) Jeringas de 5 mL.
- m) Espátulas.

2.4 SOFTWARE

- a) Software Chorm HPLC “System Manager”.
- b) ACD/ChemSketch Freeware.
- c) Canva.com

3 METODOLOGÍA

3.1 OBTENCIÓN DE LOS ESTÁNDARES

Para el presente estudio se emplearon dos estándares;

- a) Estándar de Cannabidiol C-045-1mL (1.0 mg/mL en 1mL de Metanol) (Cerilliant - Sigma Aldrich).
- b) Estándar de Delta-9-Tetrahidrocannabinol T-005-1mL (1.0 mg/mL en 1mL de Metanol) (Cerilliant - Sigma Aldrich).

Ambos estándares fueron adquiridos en la empresa Merck S.A y presentan una documentación que certifica su procedencia.

3.2 OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS

Para el presente estudio se seleccionaron 5 formas de dosificación que contienen cannabis medicinal (aceites) conteniendo los siguientes cannabinoidesdeterminade CBD y THC.

La primera muestra es de origen nacional declaró tener una concentración de 5% de CBD o 50 mg/mL CBD, el aceite presentó un color amarillento traslucido, el envase mediato indicó número de lote, fecha de vencimiento y registro sanitario, el fabricante reportó que

el aceite de CBD se importó y se diluyó en aceite portador para alcanzar la concentración que se señaló en el producto.

La segunda muestra es de origen nacional no declaró una concentración exacta, pero tiene un rótulo que indicaba lo siguiente; “2:1 CBD”, ya que es un dato ambiguo se supuso que significa que por dos partes de aceite portador hay una parte de CBD, el aceite presentó un color verde claro opalescente, el envase mediano no indicaba número de lote, fecha de vencimiento ni registro sanitario.

La tercera muestra es de origen nacional declaró tener una concentración al 20 % de cannabinoides, el envase mediano del producto presentó fecha de vencimiento, mas no un número de lote ni registro sanitario, presentó un color verde oscuro opalescente, el fabricante reportó que, se encargan de la siembra de marihuana, extracción y elaboración del aceite de cannabis.

La cuarta muestra es de origen nacional declaró contener CBD, no indicó la concentración, lote, fecha de vencimiento ni registró sanitario, el fabricante reportó que se encarga de la extracción y elaboración del aceite de cannabis.

Por último, la quinta muestra es un producto importado declaró tener cannabinoides, pero no especificó la concentración, el fabricante declaró que no es un producto regulado por la FDA, pero cuenta con fecha de vencimiento, número de lote y registro sanitario.

En la siguiente tabla se puede observar un resumen del contenido declarado de las muestras.

Tabla 2.1. Contenido declarado de las muestras.

Muestras	Concentraciones		Contenido
Muestra 1	5% (50mg/mL)	CBD	Según lo declarado en la etiqueta
Muestra 2	2:1	CBD	Según lo declarado en la etiqueta
Muestra 3	20%	Cannabinoides	Según lo declarado en la etiqueta
Muestra 4	No especifica	CBD	Según lo declarado en la etiqueta
Muestra 5	No especifica	Cannabinoides	Según lo declarado en la etiqueta

4 ANÁLISIS DE LOS ESTÁNDARES

4.1 TRATAMIENTO DE ESTÁNDARES PARA IDENTIFICACIÓN DE TIEMPOS DE RETENCIÓN CBD Y THC

A partir de los estándares primarios sigma aldrich de CBD y THC proporcionados por Merck, ambos con la concentración 1 mg/mL diluidos en metanol, se elaboró dos soluciones stock de concentración 0.01 mg/mL, las cuales se formularon diluyendo 100 μ L de dichos estándares en fioles de 10 mL, utilizando el metanol como diluyente y filtro de nylon 0.45 μ m y 25 mm, esto con el fin de identificar los tiempos de retención por separado.

4.2 TRATAMIENTO DE ESTÁNDARES PARA LA CUANTIFICACIÓN DE CBD Y THC

Una vez identificados los tiempos de retención se procedió a combinar los estándares de CBD y THC, en una fiola de 5 mL se añadieron 100 μ L de cada solución estándar (1mg/mL), seguidamente se añadieron 50 μ L de aceite de oliva extra virgen, se enrazó con metanol, se homogenizo manualmente, se sonicó 30 minutos a temperatura ambiente, y se pasaron a viales ámbar por un filtro de nylon 0.45 μ m 25mm, para de esta manera obtener 0.02 mg/mL de concentración.

4.2.1 ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS

Para la preparación de las muestras oleosas se diluyeron 50 μ L de cada aceite en fioles de 10 mL enrazando con metanol, todas las muestras se homogenizaron por agitación manual de 5 minutos, posteriormente se sonicaron durante 30 minutos a temperatura ambiente y se filtró a viales ámbar empleando un filtro de nylon 0.45 μ m 25 mm.

4.2.2 ELABORACIÓN DE LA FASE MÓVIL

La fase móvil consta de una solución de acetonitrilo y ácido acético al 0.5 % respectivamente, en proporción 80:20. Para la elaboración de la solución de ácido acético 0.5% se midió 5 mL de ácido acético glacial para HPLC y se vertió en una fiola de 1000 mL enrazando con agua ultra pura, se homogenizo manualmente durante 5 minutos, se sonicó durante 20 minutos a temperatura ambiente y se filtró con ayuda de una bomba de vacío y un filtro de membrana 0.45 μ m 25mm, por otra parte el acetonitrilo se sonicó 20 minutos y se filtró.

4.2.3 SELECCIÓN DEL DISOLVENTE PARA LAS MUESTRAS

Entre los disolventes más comunes se encuentra el metanol y acetonitrilo,

Se diluyó las muestras en metanol, acetonitrilo y en una mezcla 1:1 de metanol: acetonitrilo para determinar cuál de los solventes presenta una mejor resolución.





CAPITULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1 FASE MOVIL Y DISOLVENTE

Katarzyna (42) para la separación de cannabinoides recomienda usar un flujo en gradiente y un tiempo de corrida de 20 minutos. Debido a que solo se quería identificar dos cannabinoides no es necesario utilizar un flujo de gradiente, por lo tanto, el flujo fue isocrático, se ajustó las proporciones de los componentes de la fase móvil para conseguir una mayor separación entre los picos llegando a la proporción 80:20 acetonitrilo: ácido acético 0.5%.

Sandhyarani (41) para la separación de cannabinoides empleó una fase móvil 75:25 acetonitrilo: agua con un flujo isocrático.

Para la selección del disolvente se escogió el metanol ya que los cromatogramas de este presentan una mejor resolución en comparación con los de acetonitrilo y la mezcla 1:1 acetonitrilo: metanol por otra parte el uso de metanol como diluyente para las muestras es fundamental, debido a que los cannabinoides presentan alta solubilidad en este, como las soluciones patrón están diluidos en metanol, las posibles interferencias que pueden existir no se deberán al solvente.

2 IDENTIFICACIÓN MEDIANTE LA DETERMINACIÓN DE TIEMPOS DE RETENCIÓN DE CBD Y THC EN LOS ESTÁNDARES

2.1 TIEMPO DE RETENCIÓN

Se inyectaron 20 μ L de cada solución stock por separado, se estipuló que el CBD eluyó antes que el THC, por ende, se procedió a inyectar la solución que contenía ambos estándares, el tiempo de retención de CBD fue de 3.94 minutos y para el THC fue de 7.39 minutos, tal y como se observa en la figura 2.1, al igual que Katarzyna (42) el CBD eluyó antes que el THC, el CBD con un tiempo de retención de 6 minutos y el THC con un tiempo de retención de 8 minutos, mientras tanto Sandhyarani (41) obtuvo un tiempo de retención de 7.06 minutos para el CBD y de 14.30 minutos para el THC, la variación de tiempos de retención se debe principalmente a la composición y concentración de las fases móviles.

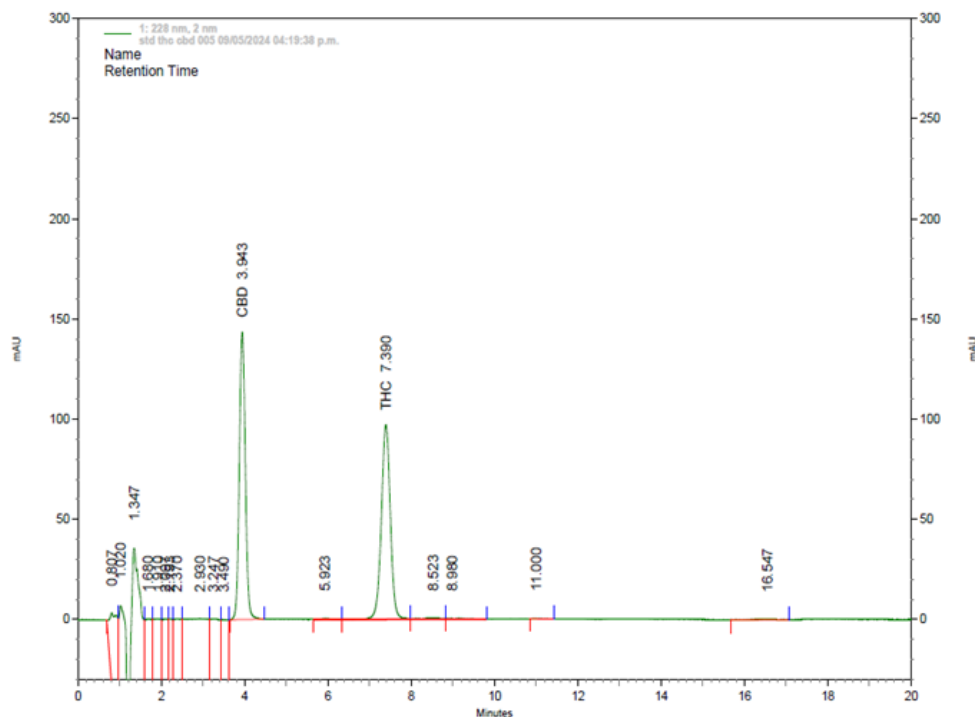


Figura 2.1 Tiempos de retención de CBD y THC.

Las condiciones cromatográficas fueron las siguientes para todas las lecturas, se empleó una columna cromatográfica RP-18 LiChrospher, el horno se encontraba a una temperatura de 25 °C, ambas soluciones estándares indicaban que la longitud de onda a la que se presenta una mayor absorbancia es de 228 nm, lo cual se confirmó con el detector DAD, la fase móvil fue isocrática en proporciones 80:20 acetonitrilo y ácido acético al 0.5%, el tiempo de corrida es de 10 minutos.

El tiempo de retención de CBD es menor al de THC, por consecuencia se puede mezclar ambos, esta mezcla no afectaría las áreas que brinda cada pico, ya que el ultimo pico en salir es el de THC en el minuto 7, no es necesario hacer una corrida de 20 minutos, por consecuencia el tiempo de la corrida cromatográfica se redujo a 10 minutos el cual es más corto en comparación al método de Sandhyarani (41) que tiene un tiempo de corrida de 20 minutos para la identificación de CBD y THC, si bien también es menor que el método Sandhyarani (41) con un tiempo de 20 minutos, la diferencia radica en que este último método analiza 4 cannabinoides y no dos.

3 CUANTIFICACIÓN MEDIANTE LA DETERMINACIÓN DE ÁREAS DE CBD Y THC EN LOS ESTÁNDARES

3.1 GRÁFICO DE CALIBRACIÓN

La solución preparada anteriormente que contenía CBD y THC a concentración 0.02 mg/mL se inyectó por triplicado repitiendo las mismas condiciones cromatográficas en el equipo HPLC con los siguientes volúmenes de inyección 5,10,15,20,25 μL , en las tablas 3.1 y 3.2 se puede observar las áreas obtenidas a determinadas concentraciones junto a sus volúmenes de inyección.

Tabla 3.1 Áreas de los estándares de CBD a determinadas concentraciones.

Áreas			Concentración (mg/mL) CDB	Volumen de inyección (μL)
Área 1	Área 2	Área 3		
1128531.00	1125381.00	1122643.00	0.10	5.0
2292894.00	2255189.00	2243320.00	0.20	10.0
3432708.00	3472603.00	3455466.00	0.30	15.0
4636197.00	4625732.00	4599327.00	0.40	20.0
5767636.00	5740752.00	5744253.00	0.50	25.0

Tabla 3.2 Áreas de los estándares de THC a determinadas concentraciones.

Áreas			Concentración (mg/mL) THC	Volumen de inyección (μL)
Área 1	Área 2	Área 3		
1104923.00	1091148.00	961375.00	0.10	5.0
2262443.00	2286685.00	2268889.00	0.20	10.0
3346741.00	3366027.00	3449981.00	0.30	15.0
4648427.00	4629868.00	4590899.00	0.40	20.0
5810845.00	5738400.00	5850015.00	0.50	25.0

3.2 LINEALIDAD

En ambos gráficos de calibración existe un coeficiente de determinación positivo debido a que el valor R^2 en ambas graficas es cercano a 1, lo que indica que ambas variables son directamente proporcionales una de la otra, como se puede observar en las siguientes figuras 2.2 y 2.3, por otra Sandhyarani (41), utilizando otra fase móvil obtuvo un $R^2=0.9999$ para CBD y THC parte la linealidad se determinó mediante el análisis de la mezcla de los estándares al igual que Sandhyarani (41).

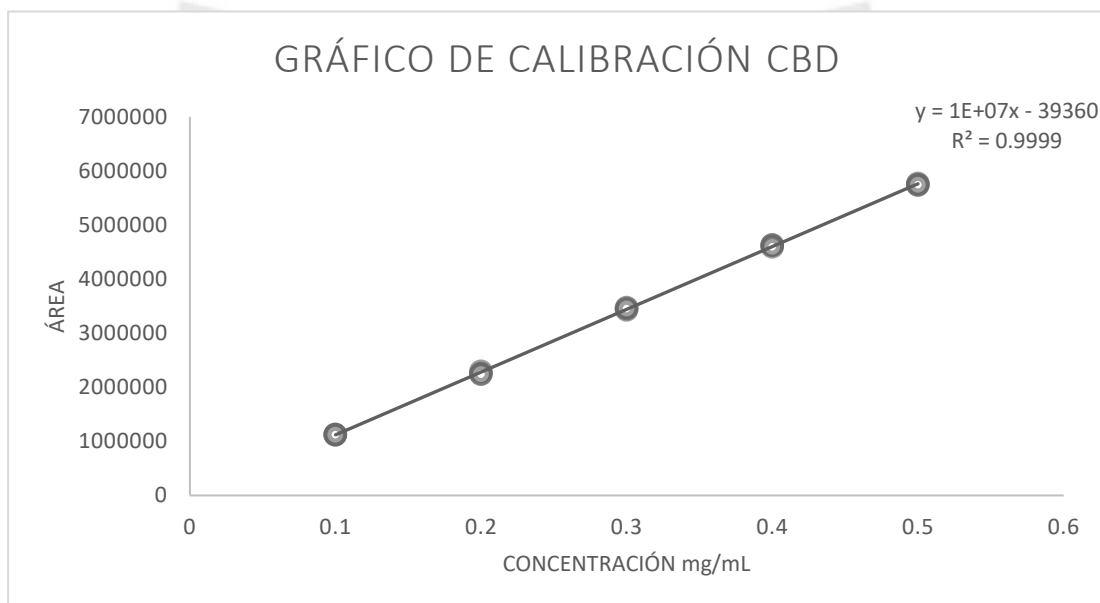


Figura 2.2 Gráfico de calibración de CBD.

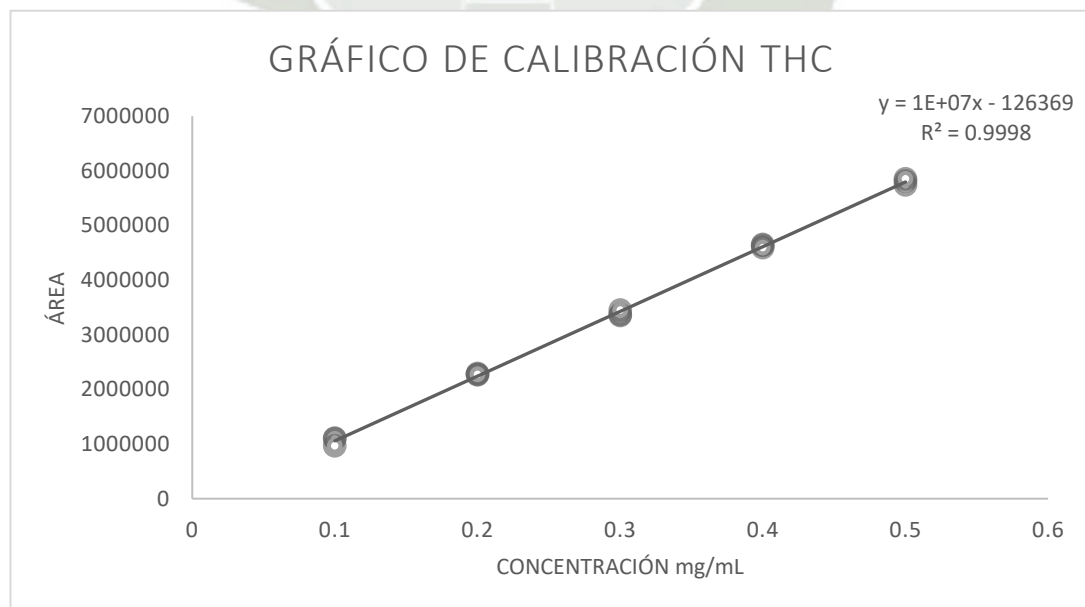


Figura 2.3 Gráfico de calibración de THC.

3.2.1 LÍMITE DE DETECCIÓN (LOD) Y LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN (LOQ)

Para la determinación del LOD y del LOQ se utilizó los estadísticos asociados a la recta de calibración tanto para el CBD como el THC, los cuales se pueden observar en la figura 2.2 y 2.3 y en las siguientes tablas 3.3 y 3.4:

Tabla 3.3 Estadísticos para el gráfico de calibración de CBD.

	<i>Coefficiente</i>	<i>Error estándar</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>
Intercepto	-39360.367	18485.265	-2.129283	0.1230947
X Variable 1	11607341.7	55735.171	208.25883	0.0000002

Tabla 3.4 Estadísticos para el gráfico de calibración de THC

	<i>Coefficiente</i>	<i>Error estándar</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>
Intercepto	-126369.4333	31126.15899	-4.05991	0.02693763
X Variable 1	11844935	93848.90048	126.21283	0.00000110

El límite de detección para el CBD fue de 0.0061 mg/mL, por otra parte, el que se halló para el THC fue de 0.0103 mg/mL. El límite de cuantificación de CBD fue de 0.0185 mg/mL y el de THC fue de 0.0311 mg/mL.

3.2.2 PRUEBA t-STUDENT PARA LINEALIDAD

En la tabla 3.3 y 3.4 se puede observar los estadísticos t, para un nivel de significancia del 0.05, para CBD fue de 208.25883 y para THC fue de 126.2128 estos valores son mayores al valor t crítico (3.18) que se cuenta en las tablas t, por lo que se puede decir que existe una relación directamente proporcional y significativa entre área y concentración.

3.3 DETERMINACIÓN DE CBD Y THC EN LA MUESTRA

Se analizaron 5 muestras en total, se replicó las mismas condiciones cromatográficas con cada una de las muestras, cada lectura se acompañó de una solución estándar para ajustar los picos y tiempos de retención en el software, se ajustó los volúmenes de inyección independientemente para cada muestra, los resultados se pueden observar en la tabla 3.5.

Tabla 3.5 Concentraciones obtenidas de las muestras analizadas.

Muestras	Concentraciones		Declaró	
	CBD	THC	CBD	THC
Muestra 1	54.86 mg/mL	Menor o igual al límite de cuantificación	50.00 mg / mL	No declara
Muestra 2	77.67 mg/mL	21.21 mg/mL	2:1	No declara
Muestra 3	31.56 mg/mL	3.96 mg/mL	20% de cannabinoides	
Muestra 4	Menor o igual al límite de cuantificación	5.78 mg/mL	Si declara	No declara
Muestra 5	Menor o igual al límite de detección	Menor o igual al límite de cuantificación	Si declara	Si declara

Como se observa en la tabla 3.5 la muestra 1 presentó una concentración de CBD similar a la declarada 50 mg/mL, si bien el producto presenta una concentración menor o igual al límite de cuantificación de THC, estas no podrían generar un efecto farmacológico.

La muestra 2 no precisó de una forma clara cuál es la concentración de los cannabinoides, ya que en el envase inmediato solo declara tener CBD, pero se determinó que contiene 77.67 mg/mL de CBD, y 21.21 mg/mL de THC, siendo la última muy elevada para no estar declarada.

La muestra 3 declaró tener una concentración del 20% de cannabinoides y no especifica con exactitud cuales son, el análisis por HPLC determino que hay 31.56 mg/mL de CBD y 3.96 mg/mL de THC.

La muestra 4 por contraparte declaró tener CBD, pero no especifica la concentración en la etiqueta del producto, por consecuencia el análisis reveló que dicho cannabinoide solo se encuentra una concentración menor o igual al límite de cuantificación de CBD, por otro lado, se encontró una concentración de 5.78 mg/mL de THC.

La muestra 5 declara tener bajas cantidades de cannabinoides y especifica que no es un producto regulado por la FDA, el análisis concluye que presenta una concentración menor o igual al límite de cuantificación de THC.

De todas las muestras que se analizaron solo la muestra 1 y 5 presentaron un registro sanitario, lote y fecha de vencimiento la muestra 2 y 4 presentaron información inconclusa tanto de la composición como de la concentración, la muestra 2 no declara tener THC, pero el análisis demuestra que está presente a una concentración elevada pudiendo generar interacciones farmacológicas, efectos alucinógenos, tóxicos y no deseados al paciente si no hay un correcto uso del producto, por otra parte la muestra 4 tiene THC en concentraciones menores, y podría generar lo mismo que la muestra 2 en menor media.

Generalmente para la obtención del aceite de cannabis para fines terapéuticos se busca que las plantas de cannabis tengan una concentración elevada de CBD y mínima de THC, ya que esta concentración se verá reflejada en el extracto, muchos de los laboratorios para elaborar sus preparados magistrales, extraen el aceite de la planta de cannabis y es con este que elaboran sus productos, pero como se observó en la muestra 4 no hay presencia de CBD pero si de THC, se puede concluir que al momento de la extracción del aceite de cannabis, se empleó como materia prima una planta de cannabis que contenía una concentración mayor de THC que de CBD, lo que quiere decir que no hay una correcta regulación de la materia prima que se está utilizando y se está brindando a la población un producto que no producirá el efecto farmacológico deseado.

La muestra 1 declara tener 50 mg/mL de CBD, lo cual es correcto, pero también se encontró una concentración menor o igual al límite de cuantificación de THC lo que indica que los métodos de separación no están muy desarrollados.

Si bien no se puede exigir a un análisis de control de calidad de los cannabinoides para identificarlos y cuantificarlos en estos productos magistrales, ya que este análisis es costoso y requiere de una instrumentación que pocos laboratorios cuentan, debería ser el estado el que se encargue que la materia prima sea de calidad e implemente auditorías a los lugares donde se manufacturan estos productos, para de esta manera asegurarse que la elaboración sea la adecuada y a su vez garantizar que se estén utilizando para los fines terapéuticos más no recreativos pero sobre todo determinar si son seguros para el paciente.



CAPITULO IV

CONCLUSIONES

Primera

Se determinó y establecieron los tiempos de retención para la identificación de los cannabinoides especificados, siendo el del Cannabidiol (CBD) de 3.9 minutos para una concentración de 0.01 mg/mL y el del Delta-9-Tetrahydrocannabinol (THC) 7.3 minutos para una concentración de 0.01 mg/mL.

Segunda

Los tiempos de retención de los estándares coinciden con los de las muestras por lo que es posible su identificación y cuantificación por HPLC-DAD en fase reversa.

Tercera

Respecto a la identificación y cuantificación de Cannabidiol y Delta-9-Tetrahydrocannabinol en las muestras, se establecieron parámetros de linealidad con un $R^2 = 0.9999$ para el Cannabidiol y $R^2 = 0.9998$ para el Delta-9-Tetrahydrocannabinol y se estableció el límite de detección (LOD) siendo este de 0.0061 mg/mL para el Cannabidiol y 0.0103 mg/mL para el Delta-9-Tetrahydrocannabinol, por otra parte, el límite de cuantificación (LOQ) para CBD fue de 0.0185 mg/mL y para el Delta-9-Tetrahydrocannabinol fue de 0.0311 mg/mL.

RECOMENDACIONES

Se debe continuar con la investigación y desarrollo de nuevos métodos que identifiquen y cuantifiquen cannabinoides para disminuir los costos y tiempos de análisis. De esta manera se garantizará la calidad de los productos.

Si bien los tiempos de retención pueden variar por diferentes factores, el orden de elución de los cannabinoides será el mismo, si se desea cuantificar más de dos cannabinoides se recomienda usar un flujo en gradiente.

Los productos derivados de cannabis no tienen propiedades curativas, pero sí cuentan con efectos paliativos. Se recomienda a los usuarios de cannabis que adquieran sus productos de manera formal, y que se aseguren que estos cuenten con una fecha de vencimiento, registro sanitario, concentración, lote y excipientes. Se debería optar por mejorar la regulación legal en el país con respecto al control de calidad, no solo en la planta de cannabis como producto primario, sino también al producto terminado, así como una estandarización de las posologías, esto para evitar las interacciones medicamentosas que se puedan presentar los pacientes.

REFERENCIAS

1. Ley N°30681 que regula el uso medicinal y terapéutico del cannabis y sus derivados. Congreso de la Republica. Perú: El peruano; 17 de noviembre 2017.
2. Ley N°31312 ley que incorpora y modifica artículos de la ley N°30681. Congreso de la Republica. Perú: El peruano; 25 de julio de 2021.
3. Manzo PG, Martín S, Uema S, Charles G, Montero Bruni F, Núñez Montoya S, et al. Caracterización de la problemática del uso terapéutico del Aceite de Cannabis en Córdoba. Córdoba: Revista de la Facultad de Ciencias Médicas de Córdoba. 79(2); 2022. <https://revistas.unc.edu.ar/index.php/med/article/view/30922>
4. Wong-Salgado P, Moya Salazar MM, Goicochea Palomino EA, Moya Salazar J. El contexto actual de un cambio regulatorio de cannabis. Cuba: Revista Cubana de Medicina Militar. 52(3); 2023. <https://revmedmilitar.sld.cu/index.php/mil/article/view/2434/2096>
5. Dirección General de Medicamentos, Insumos y Drogas. Cannabis Medicinal. Perú; 2017. <https://www.digemid.minsa.gob.pe/webDigemid/uso-medicinal-del-cannabis-y-sus-derivados/>
6. E. Josheph Brand ZZ. Cannabis in Chinese Medicine: Are Some Traditional Indications Refenced in Ancient Literatur Related to Cannabinoids. Pub Med; marzo 2017. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28344554/>
7. Guadalupe Esther Ángeles López, Fernando Brindis, Sol Cristians Niizawa, Rosa Ventura Martínez. Cannabis sativa L., una planta singular.México: Revista mexicana de ciencias farmacéuticas; diciembre de 2014. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S187001952014000400004&script=sci_arttext
8. Juan José León Cam Q. El aceite de Cannabis. Perú: Revista de la Sociedad Química del Perú; septiembre 2017. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s1810-634x2017000300001
9. Janosch W. Kratz MG de P. Manual sobre cannabis medicinal: KALAPA CLINIC SL; 2018.

10. Suarez Ospina D, Morales Hernández Y. Principios básicos de la Cromatografía Líquida de Alto Rendimiento para la separación y análisis de mezclas. Colombia: Revista Semilleros: Formación Investigativa; diciembre 2018.
<https://repository.uamerica.edu.co/handle/20.500.11839/7731>
11. Pollio A. The Name of Cannabis: A Short Guide for Nonbotanists. Italia: NIH; octubre de 2016. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5531363/>
12. Eduardo RGC. Extracción y Purificación de Aceite de Cannabis Mediante Fluido Súper Crítico Para Uso Medicinal. Bucaramanga: Universidad de Santander Facultad de Ingenierías Ingeniería Agroindustrial; 2022.
<https://repositorio.udes.edu.co/server/api/core/bitstreams/e9a5e904-84d2-492d-ba35-eaf5810f589b/content>
13. Catherine J. L, Peter G, Jennifer S. BRITISH PHARMACOLOGICAL SOCIETY; 2018.
14. Fiestas F, Torres G. EFECTOS DE LA MARIHUANA EN LA COGNICIÓN: UNA REVISIÓN DESDE LA PERSPECTIVA NEUROBIOLÓGICA. Perú: Rev Perú Med Exp, Salud Publica;29(1):127-34; 2012.
15. Sociedad Española de investigación sobre Cannabinoides. Actualización sobre el potencial terapéutico de los cannabinoides. España: Socidrogalcohol; 2009.
<https://socidrogalcohol.org/proyecto/actualizacion-sobre-el-potencial-terapeutico-de-los-cannabinoides/>
16. Dirección General de Medicamentos, Insumos y Drogas. Normatividad Nacional sobre el cannabis. Perú; 2019. <https://www.digemid.minsa.gob.pe/webDigemid/uso-medicinal-del-cannabis-y-sus-derivados/>
17. Decreto Supremo N° 004-2023-SA. Perú: Congreso de la República; 2023.
18. Rainka MM, Aladeen TS, Mattle AG, Lewandowski E, Vanini D, McCormack K, et al. Multiple Sclerosis and Use of Medical Cannabis: A Retrospective Review of a Neurology Outpatient Population. INTERNATIONAL JOURNAL OF MS CARE (IJMSC); 2022.
19. Stockings E, Zagic D, Campbell G, Weier M, Hall WD, SN. Evidence for cannabis and cannabinoids for epilepsy: a systematic review of controlled and observational evidence. Australia: Neurology, Neurosurgery & Psychiatry; marzo 2018.
20. Centre for Youth Substance Abuse Research. Efectos sociales y para la salud del consumo de cannabis sin fines médicos. Washington: Organización Panamericana de la Salud; 2018.

21. Instituto Nacional del cáncer. Diccionario de cáncer del NCI. Aceite portador; 29 de febrero 2024.
22. Millar SA, Stone NL, Yates AS, O'Sullivan SE. A systematic review on the pharmacokinetics of cannabidiol in humans. Estados Unidos: Pharmacol; 2018.
<http://dx.doi.org/10.3389/fphar.2018.01365>
23. Zgair A, Wong JCM, Lee JB, Mistry J, Sivak O, Wasan KM. Dietary fats and pharmaceutical lipid excipients increase systemic exposure to orally administered cannabis and cannabis-based medicines. Reino Unido: American Journal of Translational Research; 2016.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5009397/>
24. MacCallum CA, Russo EB. Practical considerations in medical cannabis administration and dosing. Italia: Eur J Intern Med; 2018.
<https://doi.org/10.1016/j.ejim.2018.01.004>
25. Therapeutic Goods Administration. Guidance for the use of medicinal cannabis in Australia: an overview. Canberra: Australian Government Department of Health; 2023.
<https://www.tga.gov.au/resources/resource/guidance/guidance-use-medicinal-cannabis-australia-overview>
26. Martínez JP. Aspectos prácticos de la elección del producto y la titulación con cannabis medicinal para el dolor crónico. España: Revista de la Sociedad Española del Dolor; noviembre 2022.
27. Instituto Nacional de Salud. INS realiza control de calidad a productos derivados del cannabis para uso medicinal y terapéutica. Perú; 2022.
<https://www.gob.pe/institucion/ins/noticias/610785-ins-realiza-control-de-calidad-a-productos-derivados-del-cannabis-para-uso-medicinal-y-terapeutico>
28. Lucero Ascarza. Cannabis medicinal: ¿cómo debe ser el control de calidad del cultivo artesanal? Saludconlupa. Perú; 2022.
29. Santiago Villaverde P. Técnicas de extracción y caracterización de cannabinoides a partir de la planta de cannabis sativa L. España: UIBrepositori; 2020.
<https://dspace.uib.es/xmlui/handle/11201/154558>
30. Juan José León C. El aceite de cannabis. Perú: Rev Soc Quim Perú; 2017.
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s1810-634x2017000300001
31. Martínez-Escobar J, González-Ruiz A, Rodríguez-Huerta J, Díaz-Cervantes E, Benítez-Cruz G, Pérez-Flores L. La cromatografía de exclusión molecular y sus

- aplicaciones en la caracterización de polímeros. México: J Mex Chem Soc; 2012.
https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-27382012000300006
32. Ruiz Benitez ML. Cromatografía líquida de alto rendimiento HPLC. REPOSITORIO DIGITAL DE LA UNIVERSIDAD SIMÓN BOLÍVAR. Colombia; 2020.
<https://bonga.unisimon.edu.co/handle/20.500.12442/7985>
33. Mandrioli M, Tura M, Scotti S, Gallina Toschi T. Fast Detection of 10 Cannabinoids by RP-HPLC-UV Method in Cannabis Sativa L. Italia: Molecules; 2019.
34. Krul MESI. Handbook of ANALYTICAL VALIDATION. Estados Unidos: Taylor & Francis Group, LLC, editor; 2012.
35. Saavedra Santana Pedro. Métodos Estadísticos. México: Servicio de publicaciones y difusiones científicas; noviembre 2003. <https://www.studocu.com/es-mx/document/instituto-tecnologico-de-puebla/estadistica/ftema-15-rlestimacion-y-contrastes/45078241>
36. Jorge Contreras Peralta, Pedro Manuel Rodríguez Suarez. El problema mundial de las drogas: un análisis comparado de la política de cannabis en Uruguay y Canadá. México: Revista de Ciencias Sociales Facultad de Derecho y Ciencias Sociales Benemérita Universidad Autónoma de Puebla; 2020.
37. Ke Qu, D. D. Environmental Analytical Chemistry. China: ELSERVIER; 2024
<https://doi.org/10.1016/B978-0-443-21966-5.00001-6>
38. Amaro MM, Bajda L, Bongiovanni GA. Comparación de métodos de descarboxilación de las formas ácidas CBDA y THCA a sus formas neutras CBD y THC, en aceites medicinales de cannabis. Argentina: Boletín Digital de la FaCA; octubre 2023. <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/227471>
39. Gustavo Tamosiunas, Emiliano Pagano, Pía Artagaveytia. Una introducción al perfil farmacológico y terapéutico de la marihuana. Trabajo del Departamento de Farmacología y Terapéutica Hospital de Clínicas, Uruguay: Prensa Medica Latinoamericana; diciembre 2023.
http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1688-423X2013000300010
40. Sánchez Turcios RA. t-Student: Usos y abusos. México: Revista mexicana de cardiología; 2015.
41. Sandhyarani A, K. Langsi , Hanrahan , Moore. Analytical method validation for assay determination of cannabidiol and tetrahydrocannabinol in hempoil infused products by

- RP-HPLC. Irlanda: Reporte científico. Lee Road, Cork: University College Cork, School of Chemistry; 2022. <https://www.nature.com/articles/s41598-022-13737-6>
42. Madej K, Chmiólek A, Szlachta K, Piekoszewski W. HPLC-DAD Analysis of Hemp Oil Supplements for Determination of Four Cannabinoids: Cannabidiol, Cannabidiolic Ácido, Cannabinol and Delta 9-Tetrahydrocannabinol. Separations. Polonia; 2021. <https://www.mdpi.com/2297-8739/8/12/227>
43. Melo MF. ¿En dónde es legal la marihuana?. Statista; 2024.





ANEXOS

Anexo 1: Anti-publicidad del cannabis siglo 19. (1)



Anexo 2: Anti-publicidad del cannabis siglo 19. (2)



Anexo 3: Registro nacional de pacientes usuarios del cannabis y sus derivados para uso medicinal y terapéutico.

**REGISTRO NACIONAL DE PACIENTES USUARIOS
DEL CANNABIS Y SUS DERIVADOS PARA
USO MEDICINAL Y TERAPÉUTICO**

Soy paciente nuevo

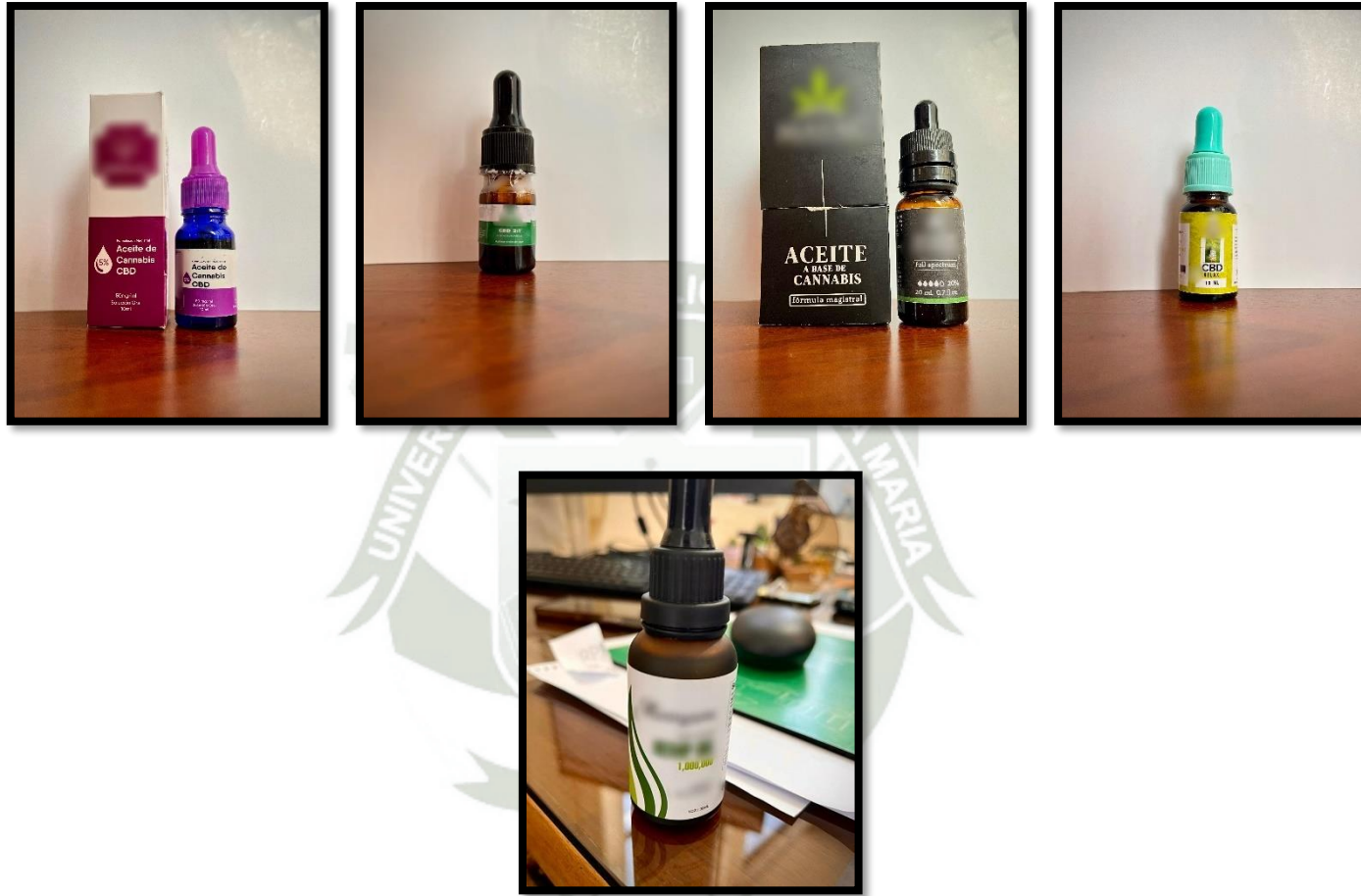
Complete la declaración jurada virtual

Paciente continuador

Consulte, edite datos e imprima
declaración

Av. Parque de las Leyendas # 240 Torre B - San Miguel, Lima - Perú
Central telefónica: 51-1-631-4300

Anexo 4: Muestras proporcionadas para la investigación.



Anexo 5: Certificado de Análisis del estándar de Cannabidiol.

Solution Standard Verification

Concentration accuracy and within- and between-bottle homogeneity are analytically verified against an independently prepared calibration solution and to the prior lot.

Standard Solution Assay Parameters		Calibration Curve	
Analysis Method:	HPLC/UV	Calibration Curve:	Linear Regression
Column:	Ascentis Express C18, 2.7 µm, 3.0 x 100 mm	Number of Points:	4
Mobile Phase:	Acetonitrile:0.1% Phosphoric acid in Water (80:20)	Linearity (r) :	1.000
Flow Rate:	1.5 mL/min		
Wavelength:	228 nm		
		Verified Concentration (mg/mL)	%RSD - Homogeneity
Standard Solution	Lot Number	Actual Results	Actual Results
New Lot	FE01112103	0.998	0.4
Previous Lot	FE10071912	1.002	0.2
<ul style="list-style-type: none"> • Concentration is verified through multiple analyses and is calculated as the average of multiple analyses compared to an independently prepared calibration solution. • Within-sample and between-sample homogeneity of the New Lot is ensured through rigorous production process controls statistically analyzed to evaluate risk and verified by analysis. Multiple samples pulled from across the lot using a random stratified sampling plan were analyzed to verify homogeneity. % RSD results shown above for the New Lot demonstrate ampoule-to-ampoule homogeneity. 			

Anexo 6: Certificado de Análisis del estándar de THC.

Solution Standard Verification

Concentration accuracy and within- and between-bottle homogeneity are analytically verified against an independently prepared calibration solution and to the prior lot.

Standard Solution Assay Parameters		Calibration Curve	
Analysis Method:	HPLC/UV	Calibration Curve:	Linear Regression
Column:	Luna C18 (2), 3 μ m, 4.6 x 150 mm	Number of Points:	4
Mobile Phase:	Methanol:Water:Tetrahydrofuran (71:24:5)	Linearity (r) :	1.000
Flow Rate:	1.0 mL/min		
Wavelength:	228 nm		
		Verified Concentration (mg/mL)	%RSD - Homogeneity
Standard Solution	Lot Number	Actual Results	Actual Results
New Lot	FE05252135	0.983	0.3
Previous Lot	FE04222001	0.991	0.2
<ul style="list-style-type: none">• Concentration is verified through multiple analyses and is calculated as the average of multiple analyses compared to an independently prepared calibration solution.• Within-sample and between-sample homogeneity of the New Lot is ensured through rigorous production process controls statistically analyzed to evaluate risk and verified by analysis. Multiple samples pulled from across the lot using a random stratified sampling plan were analyzed to verify homogeneity. % RSD results shown above for the New Lot demonstrate ampoule-to-ampoule homogeneity.			
		Verified Concentration against USP Standard HPLC Analysis	
Standard Solution	Lot Number		
New Lot	FE05252135		1.015
<ul style="list-style-type: none">• Concentration is verified against an independently prepared calibration solution using USP Standard 1651621 Lot R045H0			