

# **Protocolo para el control de calidad de productos derivados del cannabis**

Por

Valentina García Palmett

Laura Chamorro Moreno

Asesor: Crhistian Alexis Gomez Suarez

Seminario de investigación III  
Facultad de Ciencias y biotecnología  
Química Farmacéutica

UNIVERSIDAD CES  
MEDELLÍN  
2021

## ÍNDICE

1.	Planteamiento del problema.....	3
	1.1 Objetivo general.	
	1.2 Objetivos específicos.	
	1.3 Justificación.	
	1.4 Pregunta problema.	
2.	Marco teórico.....	5
	2.1 Sobre la planta de Cannabis.	
	2.1.1 Definición.	
	2.1.2 Taxonomía.	
	2.1.3 Historia.	
	2.1.4 Usos medicinales y efectos terapéuticos.	
	2.1.5 Contaminantes y sus efectos adversos.	
	2.1.6 Terpenos.	
	2.2 Aspectos legales	
	2.2.1 Decreto 613 del 2017.	
	2.2.2 Sobre los productos derivados del cannabis.	
	2.3 Aspectos generales de las técnicas de análisis instrumental y equipos.	
	2.3.1 Cromatografía de capa fina.	
	2.3.2 Cromatografía de gases.	
	2.3.3 Cromatografía líquida de alta eficiencia.	
	2.4 Límites.	
	2.4.1 Límites microbiológicos.	
	2.4.2 Límites de pesticidas.	
	2.4.3 Límites de cannabinoides.	
	2.4.4. Límites de aflatoxinas.	
	2.4.5 Límites de metales pesados	
	2.4.6 Límites de solventes	
	2.5 Metodos de extraccion	
	2.5.1 BHO (butane hash oil)	
	2.5.2 Extracción con Soxhlet	
	2.5.3 Extracción asistida por microondas (EAM)	
	2.5.4 Extracción por fluidos supercríticos CO2	
3.	Materiales y métodos.....	24
	3.1 Cromatografía de capa fina para la caracterización de Cannabis.	

- 3.2 Cromatografía de gases para análisis de cannabinoides.
- 3.3 Cromatografía de gases para análisis de disolventes residuales insolubles
- 3.4 Cromatografía líquida de alta eficiencia.

4.	Resultados.....	31
	4.1 Análisis microbiológicos	
	4.2 Análisis de solventes residuales	
	4.3 Analisis y cuantificacion de cannabinoides	
5.	Discusión.....	40
6.	Conclusión.....	45
7.	Glosario.....	46
8.	Bibliografía.....	47

# 1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El cannabis es una planta que ha sido utilizada como una alternativa medicinal y de forma recreativa durante mucho tiempo, y es ampliamente conocida en todo el mundo, tanto que su uso medicinal es legal en Colombia desde el 2017. La demanda de cannabis psicoactivo por parte de Estados Unidos y otros países aumentó en los 60s y 70s, sin embargo, hubo una gran influencia estadounidense para criminalizar esta planta, dejando un gran estigma que se ve incluso hoy en día. Esto a su vez impide que la población se informe sobre sus beneficios, riesgos, productos seguros, etc. A pesar de que el uso medicinal está legalizado y regulado por los respectivos entes, existen muchos productos a base de cannabis que no cuentan con ningún tipo de control de calidad en el mercado. Este control es importante para verificar que las formulaciones con cannabis tengan las dosis adecuadas, un estado adecuado de la materia prima, que los empleados encargados de la manufactura sigan las normas de bioseguridad, correcto envasado, etc. para evitar consecuencias peligrosas como la exposición a microorganismos patógenos, o niveles de metabolitos inadecuados, que pueden causar problemas graves en la salud del consumidor.

## 1.1 Objetivo general

Diseñar un protocolo analítico para el control de calidad de productos a base de cannabis, como propuesta para garantizar su calidad y la seguridad del consumidor.

## 1.2 Objetivos específicos

- Realizar una revisión bibliográfica del material vegetal de cannabis y productos derivados, así como los diferentes compuestos activos de interés farmacológico (cannabinoides, flavonoides, terpenos, fenoles, etc.).
- Seleccionar y describir los métodos analíticos y los criterios de aceptación para control de calidad de productos derivados del cannabis y poner algunos en práctica en el CECIF.
- Crear un folleto como propuesta para la sensibilización de los fabricantes de productos a base de cannabis, sobre los procesos de control de calidad de sus productos y su importancia.

## 1.3 Justificación

Actualmente se ha visto un incremento en el interés por el Cannabis y sus beneficios para el ser humano, que se ve reflejado en la fabricación de productos fitoterapéuticos, homeopáticos y medicamentos derivados de este. Desafortunadamente, muchos de ellos no cuentan con el debido proceso de control de calidad que exige el Decreto 613 del 2017, lo que pone en riesgo la salud de los consumidores quienes por lo general no poseen información suficiente sobre la planta y sobre los procesos que se deben llevar a cabo para un consumo seguro. Es por tal razón que es necesario verificar los niveles de aflatoxinas, metales pesados, algunos

cannabinoides, pesticidas, etc; pues son peligrosos para la salud por sus efectos adictivos, carcinogénicos, teratogénicos, neurotóxicos, mutagénicos, inmunosupresores, entre otros.

Adicional a lo anterior y más importante aún, los fabricantes que son quienes están obligados a cumplir con el Decreto mencionado previamente, son los principales responsables de las graves consecuencias que repercuten en la salud pública. En consecuencia, se ve la necesidad de invertir el tiempo, los conocimientos y los recursos que se tienen en conjunto con el CECIF para desarrollar un protocolo de control de calidad para los productos derivados del cannabis. A su vez, se considera importante invitar a los productores a participar en los procesos de aseguramiento de calidad, creando un folleto que contenga información clara y concisa sobre dichos métodos, con el fin de referir luego al protocolo analítico.

#### **1.4 Pregunta**

¿Qué protocolo para el control de calidad de productos derivados del cannabis es necesario para garantizar su seguridad?

## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1 Sobre la planta de Cannabis

#### 2.1.1 Definición

*Cannabis Inflorescence* es la planta de la cual se obtiene lo que se conoce como cannabis, que consiste en la inflorescencia y restos de hojas secas utilizados para fines médicos, científicos o recreativos. Esta contiene más de 70 compuestos identificados, entre ellos el delta-9-tetrahidrocannabinol ( $\Delta^9$ -THC) y el Cannabidiol (CBD), que son algunos de los metabolitos secundarios de mayor interés, y de los que se tiene más información. <sup>(1)</sup>

#### 2.1.2 Taxonomía

En 1753 Linneo describe a la *C. indica* proveniente de india como una planta más corta, con hojas pequeñas y estrechas, un fruto más pequeño, y como describió Lamarck con menos fibra a comparación con la *C. sativa*; Desde entonces es asociada a plantas con mayor contenido de THC mientras que la *C. sativa* a aquellas con mayor fibra (floema) y contenido de CBD. <sup>(1)</sup> Las cepas descendientes del sureste de Europa fueron llamadas *C. sativa*. *Vav. Spontanea* y las de hoja ancha de Afganistán *C. ruderalis Janisch*.

Más tarde en 1947 Shueltes describe a la *C. sativa* como alta, ramificada, usada en su mayoría por su fibra, para obtener semillas y como droga. Por otra parte, se describió a la *C. indica* como corta, mucho más ramificada, de tallo firme, hojas anchas, y mayor contenido de THC, y por último la *C. ruderalis* como corta y poco ramificada, con mayor proporción de CBD y THC.

Hoy en día se sabe que el genoma del Cannabis ha sido altamente influenciado por la intervención humana (excesivo cruce) dando pie a muchas cepas diferentes. Incluso popularmente se tiene un concepto botánicamente impreciso de la Cannabis sativa e indica.

#### 2.1.3 Historia

El cannabis ha sido de las plantas cultivadas más antiguas del mundo, y se tienen registros del uso de esta por humanos que se remonta al siglo VI a.C. Los primeros registros que se tienen del uso del cannabis medicinal datan del antiguo Egipto, donde se describe en papiros médicos. Uno de los ejemplos más antiguos se encuentra en el Papyrus Ramesseum III, donde se describe la preparación de un tratamiento para los ojos a base de apio y cáñamo. Esto sugiere un uso paralelo al uso moderno de cannabis en el tratamiento del glaucoma o, posiblemente, para efectos antiinflamatorios. En otro papiro que data del año 1500 a.C, se escribió sobre una preparación de cannabis molido en miel para enfriar el útero y eliminar su calor. Esto tiene paralelismos con las aplicaciones terapéuticas del cannabis como supositorio vaginal en el siglo XIX y para tratar trastornos ginecológicos y migrañas. Además, el cannabis se empleó en el mismo papiro como cataplasma en una uña del pie. <sup>(2)</sup>

Las propiedades antihelmínticas y potencial acción insecticida se describieron en la literatura árabe posteriormente. A finales del siglo XIX y comienzos del siglo XX, los yesos de maíz compuestos únicamente de resina de cannabis eran populares en la medicina occidental.

De la misma forma, William B. O'Shaughnessy, un físico irlandés introdujo por primera vez el cannabis a la medicina oriental como tratamiento contra el tétanos y otras enfermedades convulsivas. Al mismo tiempo, un médico francés llamado Jean-Jacques Moreau de Tours experimentó con el uso del cannabis en tratamientos para desórdenes mentales. En 1851, el cannabis fue incluido en la 3ra edición de la farmacopea de los Estados Unidos, allí se detallaba cómo preparar extractos, tinturas, cómo secar las flores para usarlas como analgésico, hipnótico y anticonvulsionante.

Hacia la década de los 90 incrementó la preocupación por el uso del cannabis y su consecuente ilegalización en 1942.<sup>(3)</sup> Tiempo después, en 1985, las compañías farmacéuticas recibieron la aprobación para comenzar a desarrollar preparados de  $\Delta^9$ -tetrahidrocannabinol, dronabinol y nabilona para uso terapéutico, y como resultado, los cannabinoides fueron reintroducidos en el arsenal de los proveedores de servicios médicos voluntarios. Actualmente se están realizando esfuerzos en los ensayos de cannabidiol como tratamiento para enfermedades como la epilepsia y la esquizofrenia.<sup>(3)</sup>

#### **2.1.4 Usos medicinales y efectos terapéuticos**

En la actualidad se están realizando esfuerzos para desarrollar fármacos específicos que sean agonistas o antagonistas de los receptores cannabinoides, que modulen la producción o degradación de los endocannabinoides. El renovado interés por los efectos terapéuticos del cannabis emana del movimiento que comenzó hace 20 años, para hacer que el cannabis esté disponible como medicamento para pacientes con una variedad de condiciones. Fue en 1996 que Arizona y California aprobaron por primera vez la legislación sobre cannabis medicinal, aunque Arizona más tarde rescindió la aprobación.<sup>(3)</sup>

Por otro lado, el alivio del dolor crónico es, con mucho, la condición más común citada por los pacientes para el uso médico del cannabis. Asimismo, una investigación, realizada en el año 2013, demostró que el 87 % de los participantes en su estudio estaban buscando marihuana medicinal para aliviar el dolor. Además, hay pruebas de que algunas personas están reemplazando el uso de analgésicos convencionales (por ejemplo, opiáceos) por cannabis.<sup>(3)</sup>

- **Efectos en el tratamiento contra el cáncer**

El cáncer y la quimioterapia causan náuseas y vómitos, dolor, neuropatía, depresión, trastornos del sueño, y otros síntomas debilitantes. Estos síntomas a menudo se desarrollan durante el tratamiento y pueden persistir después del cese de la quimioterapia.<sup>(4)</sup> Por tanto existe evidencia que indica que los cannabinoides (y el sistema endocannabinoide en general)

pueden jugar un papel en los procesos de regulación del cáncer. Por lo tanto, existe interés en determinar la eficacia del cannabis o los cannabinoides para el tratamiento del cáncer.<sup>(3)</sup>

En un estudio canadiense realizado en 2017, antes de la legalización del cannabis en ese país, el 18 % de los pacientes con cáncer consumía cannabis a menudo para aliviar el dolor, las náuseas u otros síntomas relacionados con el cáncer. Otro estudio, ejecutado ese mismo año en una clínica oncológica comunitaria, el 18,3 % de los pacientes con cáncer declararon haber consumido cannabis.<sup>(4)</sup>

El consumo de cannabis es un enfoque prometedor para el tratamiento de los síntomas en el contexto del cáncer y sus tratamientos debido a sus bioactividades multifacéticas en múltiples tejidos. Las clases más utilizadas de antieméticos para pacientes con cáncer son los antagonistas de los receptores 5-HT<sub>3</sub>, además de que los cannabinoides también inhiben directamente estos receptores. Específicamente, se cree que el CBD puede actuar como modulador del Receptor 5-HT<sub>3</sub> y como agonista indirecto en los autorreceptores 5-HT<sub>1A</sub>, lo que en última instancia reduce la disponibilidad de serotonina (5-HT<sub>3</sub>).<sup>(4)</sup>

Es crucial que se acelere la investigación científica sobre el cannabis para satisfacer la demanda de los pacientes. Sólo entonces los clínicos y los pacientes dispondrán de datos fiables de seguridad y eficacia para tomar decisiones que integren la información sobre los síntomas del paciente, el tipo de cannabis, el sistema de entrega, la preferencia del paciente, la dosis, la duración y los efectos secundarios/efectos adversos.<sup>(4)</sup>

- **Anorexia – caquexia y pérdida de peso**

La anorexia y la pérdida de peso son efectos secundarios comunes de muchas enfermedades, especialmente el cáncer. Y antes de la disponibilidad de la terapia antirretroviral altamente activa, un síndrome de desgaste fue una manifestación clínica frecuente en pacientes con infección por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH), y el síndrome avanzado de inmunodeficiencia adquirida (SIDA).<sup>(3)</sup>

A raíz de esto, se realizó una búsqueda y encontraron pequeños estudios residenciales realizados en la década de 1980, donde registraba que el cannabis inhalado aumentó la ingesta calórica en un 40 %, y la mayor parte del aumento se produjo como aperitivos y no durante las comidas. De manera similar, existe evidencia de que los cannabinoides administrados por vía oral pueden aumentar el peso en pacientes con el síndrome de emaciación asociado al VIH y la anorexia nerviosa.<sup>(3)</sup> Además, se encontró que existe una relación entre el dronabinol y el aumento de peso a diferencia del placebo suministrado. Por otro lado, la evidencia más limitada sugería que también podría estar asociada con un aumento del apetito, mayor crecimiento de la grasa corporal, reducción de las náuseas y la mejora del estado funcional<sup>(5)</sup>. El aumento del apetito fue reportado por el 73 % del extracto de cannabis, el 58 % del grupo de THC y el 69 % de los receptores de placebo.

Asimismo, todos los estudios reportados hasta la fecha, han mostrado un efecto positivo del dronabinol y los cigarrillos de cannabis en el tratamiento de la falta de apetito en pacientes con VIH. De la misma forma, los cannabinoides fueron efectivos en el tratamiento de pacientes con enfermedades tumorales.<sup>(6)</sup>

- **Epilepsia**

La epilepsia se refiere a un espectro de trastornos neurológicos crónicos, en los que grupos de neuronas en el cerebro a veces indican anormalmente y causan convulsiones.<sup>(3)</sup> Una "convulsión" es un fenómeno paroxístico transitorio determinado por una actividad neuronal anormal excesiva o sincrónica en el cerebro. La epilepsia también puede causar déficit sensorial, cognitivo, comprometiendo la calidad de vida y un mayor riesgo de muerte prematura.<sup>(7)</sup> Asimismo, la epilepsia es un trastorno neurológico crónico. Cerca del 30 % de los pacientes con epilepsia son afectados por la Epilepsia Resistente al Tratamiento (TRE) debido al fracaso de las terapias antiepilépticas comunes. Esta forma de epilepsia se caracteriza por convulsiones recurrentes que afectan negativamente la calidad de vida.<sup>(7)</sup>

Eventualmente, se identificaron dos revisiones sistemáticas de ensayos aleatorizados que evaluaban la eficacia del cannabis o los cannabinoides, utilizados como monoterapia y otras terapias, para reducir la frecuencia de convulsiones en personas con epilepsia.<sup>(3)</sup> Por otro lado, la epilepsia pediátrica tiene un gran impacto en la calidad de vida de los pacientes y sus familias. El interés por el uso del cannabis como tratamiento para la epilepsia pediátrica y, en particular, para la epilepsia resistente al tratamiento, ha crecido más en la última década. Por ende, el CBD ha sido investigado por sus efectos anticonvulsivos. Varios estudios confirmaron su eficacia en el tratamiento de convulsiones epilépticas, especialmente en pediatría.<sup>(7)</sup>

### **2.1.5 Contaminantes y sus efectos adversos**

En los productos derivados de cannabis puede haber presencia de sustancias o microorganismos que representen un riesgo en la salud humana o animal. Algunos de ellos pueden ser:

- **Aflatoxinas**

Las aflatoxinas son micotoxinas producidas por tres tipos de mohos de la especie *Aspergillus*, especialmente por *A.flavus*, los cuales son frecuentes en cultivos de uso humano y animal (incluido el cannabis), y pueden presentarse en cualquiera de las etapas pre y postcosecha. Existen 4 tipos importantes de aflatoxinas: B1, B2, G1 y G2. Adicional a estas la M1 y M2 son metabolitos hidroxilados de la B1 y B2.<sup>(32)</sup>

Estas son un grupo de compuestos químicos orgánicos no proteicos, cuyo esqueleto básico es un anillo de furano unido al núcleo de cumarina. Asimismo, los procesos de cocción, tostado u horneado pueden reducir los niveles de aflatoxinas pero no eliminarlas completamente.<sup>(33)</sup>

Además de esto, su consumo crónico tiene efectos carcinógenos potentes que pueden afectar cualquier órgano, en especial el hígado y el riñón. De igual forma, son mutagénicos, genotóxicos y teratogénicos. Asimismo, pueden producir inmunodepresión, e incluso causar intoxicación aguda y posterior muerte. <sup>(22)</sup>

- **Metales pesados**

Los metales como el mercurio, arsénico, cadmio, cromo y plomo pueden causar neurotoxicidad, cáncer, efectos teratogénicos, diabetes, enfermedades pulmonares y cardiovasculares, inmunosupresión, anemia, hipertensión, disfunción renal, entre otras patologías. <sup>(25, 26, 27, 28)</sup>

- **Pesticidas o plaguicidas**

Son sustancias utilizadas para matar, reducir o repeler plagas, y la mayoría pueden ser tóxicos. La exposición a largo plazo tiene efectos carcinogénicos, neurotóxicos, teratogénicos, problemas de fertilidad, en el sistema inmunológico, respiratorios, diabetes, etc. <sup>(29)</sup>

- **Residuos de solventes**

Son sustancias químicas orgánicas volátiles que se usan o producen durante la fabricación de productos farmacéuticos, y no siempre son eliminadas por completo en estos procesos. Debido a que estos residuos no tienen ningún beneficio terapéutico, deben ser eliminados en la medida de lo posible para cumplir los límites seguros establecidos por la USP.

Los riesgos de exposición a solventes dependen de cada uno individualmente, por ejemplo la exposición a cantidades altas (10,000 a 20,000 ppm) de benceno en el aire, en un tiempo reducido puede causar la muerte. En menores cantidades puede producir síntomas de malestar, y su exposición en periodos prolongados puede provocar daños a los tejidos encargados de la producción de sangre, como la médula ósea; lo que puede conllevar a padecer anemia, hemorragias, inmunodepresión, leucemia, etc. <sup>(30)</sup>

### **2.1.6 Terpenos**

Los terpenos son hidrocarburos básicos orgánicos que se encuentran en las plantas, incluido el cannabis. Estos son compuestos volátiles conocidos como EO (aceites esenciales) y son los responsables del aroma del cannabis. Los terpenos, al igual que los fitocannabinoides se encuentran en su mayoría en las células secretoras de la planta, más conocidos como los tricomas glandulares y allí mismo son sintetizados. De la misma forma, en los tricomas que se encuentran en las flores no fertilizadas (sin semilla), previo a la senescencia se encuentra la mayor concentración de terpenos. Además, la producción de terpenos puede incrementar con la exposición al sol y decrecer fácilmente con la fertilización del suelo. <sup>(13)</sup>

Existen diversos tipos de terpenos y su actividad farmacológica varía mucho; en este caso, para el cannabis estos terpenos se pueden encontrar en los tricomas de la planta y pueden ser sinérgicos con algunos cannabinoides, como se muestra en la siguiente tabla. <sup>(13)</sup>

**Tabla 1.** Terpenos y su actividad farmacológica.

Terpeno	Actividad farmacológica	Cannabinoide sinérgico
<b>Limoneno</b>	- Inmuno estimulante de la vía de inhalación. -Ansiolítico -Apoptosis de células de cáncer de pecho. -Activo contra las bacterias que causan acné. -Reflujo gastroesofágico.	CBD CBD CBD - CBG CBD THC
<b>α- pineno</b>	-Antiinflamatorio a través de PGE-1. -Broncodilatador. -Inhibidor de la acetilcolinesterasa, que ayuda a la memoria.	CBD THC CBD
<b>β- mirceno</b>	-Bloquea la inflamación a través de PGE-2 -Analgesico, antagonizado por naloxona. -Sedante, relajante muscular, hipnótico. -Bloquea la carcinogénesis hepática por aflatoxinas.	CBD CBD - THC THC CBD - CBG
<b>Linalol</b>	-Ansiolítico -Sedante en inhalación en ratones. -Analgesico local. -Analgesico a través de la vía adenocina $A_{2A}$ . -Anticonvulsiónante/ anti-receptor de glutamato.	CBD THC THC CBD CBD - THCV - CBDV
<b>β- cariofileno</b>	-Citoprotector gástrico -Agonista selectivo para CB2. -Tratamiento contra el prurito. -Tratamiento contra la adicción.	THC THC THC CBD
<b>Óxido de cariofileno</b>	-Disminuye la agregación plaquetaria. -Antifúngico para la onicomosis comparable con ciclopiroxolamina y sulconazol. -Insecticida.	THC CBC, CBG THCA, CBGA
<b>Nerolidol</b>	-Sedante	THC, CBN
<b>Fitol</b>	-Inhibitor de SSADH a través de GABA	CBG

Los terpenoides que tienen una concentración por encima del 0.05 % son considerados de interés farmacológico. Asimismo, en el cuerpo humano estos actúan como moléculas lipofílicas que interactúan con la membrana celular, los canales iónicos neuronales y musculares, neurotransmisores, receptores acoplados a proteínas G, sistemas de segundos mensajeros y enzimas. Por ejemplo, en un estudio en el que se expuso a unos ratones a inhalar algunos terpenos en el ambiente por una hora se demostró que estos tienen efectos farmacológicos directos en el cerebro, como el linalol que reduce en un 73 % la motilidad en  $4.22 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$  o el pineno que incrementó en un 13.77 % .Estos niveles son comparables con los del THC medidos en humanos que recibieron extractos de cannabis, que producen efectos terapéuticos contra el dolor o contra los síntomas de la esclerosis múltiple en varios ensayos aleatorios controlados.<sup>(13)</sup> Otro ejemplo de actividad farmacológica de los terpenos es el limoneno, que tiene una alta biodisponibilidad con un 70 % de captación pulmonar humana, además de producir apoptosis en las células del cáncer de pecho.

## **2.2 Aspecto legal**

Actualmente en Colombia, como se analizará posteriormente, es legal el uso del cannabis para fines medicinales y científicos.

### **2.2.1 Desarrollo del aspecto normativo**

La Constitución Política de Colombia de 1991<sup>(42)</sup> establece en su artículo 49, modificado por el artículo 1 del acto legislativo 2 de 2009<sup>(43)</sup>, que la atención a la salud y el saneamiento ambiental es un deber estatal. Dicho acto legislativo agregó la idea de que el porte o consumo de sustancias estupefacientes o psicotrópicas se encuentra prohibido, a excepción de que exista de por medio una prescripción médica. Esta nueva prescripción del artículo se sistematiza con su deber estatal, pues el Estado tiene el deber de organizar, dirigir y reglamentar los servicios de salud a los habitantes y de saneamiento ambiental conforme a los principios de eficiencia, universalidad y solidaridad.

Es por ello que el legislador colombiano se encargó de desarrollar dicho derecho constitucional, y por ende expidió la Ley 1787 de 2017<sup>(41)</sup>, a través de la cual se tiene por objeto crear un marco regulatorio que permita el acceso seguro e informado al uso médico y científico del cannabis y sus derivados en el territorio nacional colombiano. Esta ley establece que es deber del Estado controlar todas las situaciones que se pueden presentar para el uso del cannabis y por ende, le atribuye la obligación a diferentes Ministerios para que desarrollen las reglas de juego de la importación, exportación, cultivo, producción, fabricación, adquisición a cualquier título, almacenamiento, transporte, entre otras actividades.

Ahora bien, la Ley le otorgó al Ministerio de Salud y Protección Social la obligación de reglamentar la materia correspondiente al uso medicinal y científico del cannabis, por lo que la normativa de esta entidad pública será fundamental para el desarrollo del trabajo. Esta misma Ley dispone que las personas que quieran usar el cannabis desde un aspecto medicinal o científico, deben contar con una licencia expedida por el Instituto Nacional de Vigilancia de

Medicamentos y Alimentos (INVIMA) para poder importar, exportar, producir, fabricación, adquisición a cualquier título, almacenamiento, transporte, etc. También establece los controles que se deben hacer para las personas que cuentan con la licencia, sus respectivas tarifas, faltas y sanciones, y establece que hay excepciones para la configuración de varios tipos penales en la ley 599 de 2000<sup>(44)</sup>.

El Ministerio de Salud y Protección Social en su Decreto Único Reglamentario del Sector Salud y Protección social 780 de 2016<sup>(45)</sup>, trajo en su desarrollo normativo, en específico en el título 11 de la parte 8 del libro 2, una reglamentación concerniente al cultivo de cannabis, procesos de importación, exportación, el uso de las mismas, etc. Así mismo, crea normatividad correspondiente a las licencias otorgadas por la autoridad competente y sus requisitos especiales.

Desde otra perspectiva, el mismo Ministerio, reglamentó la ley 1787 de 2017 y subroga el Título 11 de la Parte 8 del Libro 2 del Decreto 780 de 2016, por medio del Decreto 613 de 2017<sup>(46)</sup> en los mismos criterios normativos.

Para finalizar este recorrido normativo, el Ministerio ya mencionado expide la resolución 2891 del 2017<sup>(47)</sup> para reglamentar el sistema tarifario con respecto a las evaluaciones de control que realiza el estado, y expide la resolución 2892 de 2017<sup>(48)</sup> para traer una nueva normativa con respecto a las licencias, las modalidades de las mismas, sus requisitos especiales y su control y seguimiento. El artículo 86 del decreto 2106 de 2019, como normatividad más actualizada, modificó lo concerniente a los servicios de evaluación y control de las personas que cuentan con una licencia de este tipo.

Se mencionan a continuación unas definiciones que traen estas normas jurídicas en el tema, para que sirva de guía:

**Actividades de Investigación y Desarrollo:** actividades que están centradas principalmente en la investigación de las Plantas de Cannabis y desarrollo de Derivados y procesos relacionados.

**Área de fabricación:** Inmueble o conjunto de inmuebles que en el marco de una licencia están habilitados por el Ministerio de Salud y Protección Social para la ejecución de actividades de transformación de cannabis, fabricación de derivados, su embalaje, almacenamiento, y centro de distribución y exportación.

**Disposición final:** Es toda aquella operación que tiene como función eliminar los residuos. Hay operaciones de eliminación como depósito permanente, inyección profunda, rellenos, destrucción, transformación, reciclado, regeneración y reutilización.

**Licencia de Producción y Fabricación:** Es una decisión emitida por el Ministerio de Salud y Protección Social que da el permiso para la transformación de Cannabis con fines médicos o científicos.

**Plan de fabricación:** Documento proyectado por el periodo inicial de la licencia, que se entiende que es el primer año y que deberá contener el cronograma de trabajo, el organigrama del solicitante, en el cual se señalen las responsabilidades y labores de cada uno de los empleados y/o contratistas -ya sean personas naturales o jurídicas- que estarán involucrados en la etapa de fabricación de derivados de cannabis y productos que los contienen, y el monto de las inversiones necesarias para la ejecución de dichas actividades. También deberá especificar: (i) los procedimientos de transformación y de control de calidad que serán implementados en el área de fabricación; (ii) el volumen estimado de fabricación de productos derivados de cannabis; (jii) un estimativo de la cantidad y especificaciones técnicas del cannabis que se empleará; iv) indicación del origen de la cosecha que se busca usar; v) un plano de las instalaciones de fabricación en donde se muestren las distintas áreas; vi) el monto de inversiones requeridas para la ejecución de las actividades de cultivo; y (vii) protocolo para realizar control del contenido de metabolitos sometidos a fiscalización, en sus plantas y productos.

**Protocolo de Seguridad:** reglas y procedimientos de seguridad establecidos en la norma jurídica y que deben ser cumplidos durante el tiempo que se tenga la licencia.

**Sustancia psicoactiva:** Es toda aquella sustancia natural o sintética, que puede estar regulada jurídicamente o no, que al ser consumida puede llegar a generar una dependencia y/o tolerancia afectando la psiquis de la persona y con ello su función de juicio, del comportamiento o el estado de ánimo.

**Transformación:** Actividad por medio de la cual se obtiene el derivado.

**Cannabis no psicoactivo:** cualquier parte de la planta que contiene menos del 1% de THC en peso seco.

**Derivados del cannabis:** aceite, resina, tinturas, extractos y preparados obtenidos del cannabis.

**Autoridades de control:** Son las Instituciones públicas encargadas de regular el uso de cannabis con fines medicinales y científicos, y son los siguientes: Ministerio de Salud y Protección Social a través de la dirección de medicamentos y tecnologías de la salud, es el encargado de otorgar la licencia para fabricación de derivados del cannabis. El control administrativo y operativo es gestionado por el Fondo Nacional de Estupefacientes (FNE) , el INVIMA regula el control de productos terminados junto con el Instituto Agropecuario ICA, y finalmente el Ministerio de Justicia y del Derecho a través del control y fiscalización de sustancias químicas y estupefacientes, que regula el uso de semillas para la siembra de cannabis, y cannabis.

**Licencia:** autorización para el cultivo y transformación del cannabis con fines médicos y científicos, que no es transferible ni aplica a áreas rurales protegidas, hay varios tipos de licencias: para la fabricación de derivados del cannabis, para el uso de semillas para su siembra, para el cultivo de cannabis psicoactivo y para el cultivo de cannabis no psicoactivo. Esta cuenta con una vigencia de 5 años renovables.

Cada una de las licencias otorgadas tiene diferentes modalidades dependiendo del fin deseado, por ejemplo, si se desea cultivar cannabis psicoactivo para la producción de semillas para siembra, producción de grano, fabricación de derivados, fines científicos, almacenamiento o disposición final.

### **2.2.2 Sobre los productos derivados del cannabis**

La licencia para la fabricación de estos productos la otorga el Ministerio de Salud y Protección Social, y tiene las siguientes modalidades: para uso nacional, investigación científica (desde la recepción de la cosecha hasta la fabricación de los productos) o para su exportación. Los requisitos para todas ellas son la descripción del área de fabricación, descripción de equipos, protocolo de seguridad, plan de fabricación y número de matrícula del inmueble, en caso de que sea para la investigación es necesaria la documentación que acredite el proyecto por la universidad, o en caso de que sea para la exportación es necesario un plan de exportación. Al expedir la licencia se hace la inscripción ante el fondo nacional de estupefacientes que otorga el permiso de importar o adquirir cannabis.

Finalmente se podría proceder a la adquisición, transporte, almacenamiento e importación de materia prima, así como a la fabricación, exportación, almacenamiento, comercialización y distribución de los derivados de Cannabis psicoactivo y no psicoactivo, teniendo en cuenta los siguiente aspectos importantes: se debe determinar por medio de metodos analiticos validando el contenido de THC, CBD y CBN en todas las cosechas que se adquieran y en cada lote producido, además de que las metodologías deben ser registradas en un protocolo, y para el transporte se deben llevar en todo momento los documentos pertinentes vigentes.

### **2.3 Descripción general de las técnicas de análisis instrumental y equipos**

Para los procesos de control de calidad es necesario seguir los procedimientos ya estandarizados y validados, en el presente se hace referencia a la farmacopea herbal americana aceptada en Colombia, y en el caso del método de cromatografía de capa fina se referencia el método descrito por la Universidad de Mississippi.

Con la apropiada preparación es posible analizar muchos tipos de muestras como preparaciones, extractos, concentrados, etc. Para ello es necesario tener en cuenta las características de los compuestos que serán analizados; como ejemplo de esto, el THC en material vegetal fresco o seco está a muy poca concentración, puesto que la planta no lo produce directamente sino que este se deriva del THCA (ácido tetrahidrocannabinólico)

mediante un proceso de descarboxilación que ocurre cuando es calentado, entonces para su cuantificación total se debe tener en cuenta las concentraciones de THC y THCA. Adicional a lo anterior algo muy importante, es que la muestra debe ser seleccionada de manera que represente el lote completo. <sup>(1)</sup>

### **2.3.1 Cromatografía de capa fina**

La cromatografía de capa fina es una técnica en la que se separan las moléculas de la muestra gracias a sus diferentes polaridades, donde se utiliza una placa sólida con una fase estacionaria polar adherida (de sílica por lo general), parcialmente sumergida en una fase móvil de una polaridad parecida en un recipiente de vidrio cerrado (cámara de elución). Luego, la muestra es depositada en la parte inferior de la placa para que puedan ir separándose las moléculas al eluir por la fase estacionaria (por capilaridad), compitiendo con la fase móvil que las va eluyendo. Posteriormente la placa se observa en una cámara reveladora a 254/365 nm (UV), o es expuesta a compuestos reveladores para distinguir en qué posición quedaron los compuestos, posteriormente es comparada con la placa de los estándares para su identificación.

Esta técnica es útil para la identificación de los principales cannabinoides: THC, THCA, THCV, CBD, CBG, CBN, CBC, CBDA, etc. <sup>(1)</sup> La cromatografía en capa fina es una técnica analítica rápida y sencilla, muy utilizada en un laboratorio de Química Orgánica. Entre otras cosas permite:

- Determinar el grado de pureza de un compuesto. Se puede determinar así, por ejemplo, la efectividad de una etapa de purificación.
- Comparar muestras. Si dos muestras tienen un mismo perfil cromatográfico en la placa, se podría indicar que sus componentes químicos son similares.
- Realizar el seguimiento de una reacción. Es posible estudiar cómo desaparecen los reactivos y cómo aparecen los productos finales o, lo que es lo mismo, saber cuándo la reacción ha acabado. <sup>(23)</sup>

### **2.3.2 Cromatografía de gases**

La cromatografía de gases es un método ampliamente utilizado para la cuantificación de fitocannabinoides. Debido a la temperatura del inyector la descarboxilación de los ácidos cannabinoides ocurre en el puerto de inyección, se logra la cuantificación de los cannabinoides ácidos y neutros simultáneamente (como suma de ellos). En caso de que sea necesaria la cuantificación de un cannabinoide en ambas formas se debe recurrir a un método como HPLC. <sup>(1)</sup>

En cromatografía de gases, la muestra se volatiliza y se inyecta en la cabeza de una columna cromatográfica. Así pues, la elución se produce por el flujo de una fase móvil, que es un gas inerte, y a diferencia de la mayoría de los tipos de cromatografía, la fase móvil no

interacciona con las moléculas del analito; su única función es la de transportar el analito a través de la columna.<sup>(24)</sup>

A comparación de la cromatografía líquida, la cromatografía de gases tiene la ventaja de disponer de detectores mucho más universales (por ejemplo, el de ionización de llama). Además, para numerosas aplicaciones, los métodos son más simples, más rápidos y más sensibles que los correspondientes a la cromatografía líquida de alta resolución. Sin embargo, en cromatografía de gases, la influencia de la temperatura sobre la distribución del equilibrio es considerable, a diferencia de la cromatografía líquida. Por ello, la cromatografía de gases presenta limitaciones en tres casos:

- compuestos poco volátiles.
- compuestos termolábiles.
- compuestos que se encuentran en forma iónica.

Por esta razón, la cromatografía de gases se emplea cuando los componentes de la mezcla problema son volátiles o semivolátiles, así como térmicamente estables a temperaturas de hasta 350-400 °C. En cambio, cuando los compuestos a analizar son poco volátiles y/o termolábiles, la técnica separativa adecuada suele ser la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).<sup>(24)</sup>

### **2.3.3 Cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC)**

En este método, la muestra es separada por una fase móvil líquida, que fluye junto con ella a través de una columna que contiene a la fase estacionaria, esto se da gracias a las diferentes interacciones que tiene la muestra con ambas fases. A diferencia de la cromatografía de gases, la cromatografía líquida de alta eficiencia no está limitada por la volatilidad o estabilidad térmica de la muestra. La técnica de HPLC es útil para la separación de macromoléculas, especies iónicas, productos naturales, materiales poliméricos y gran cantidad de grupos de alto peso molecular.<sup>(31)</sup>

En esta técnica las muestras y solventes deben pasar por filtrado y desgasificación para prevenir daños en el equipo y errores en la lectura, además de que los solventes deben ser de alta pureza (grado HPLC). Los equipos utilizados cuentan con una bomba, esta se encarga de dejar entrar la muestra y el eluyente homogéneamente. Se debe tener en cuenta que a mayor flujo más rápido pasa la muestra a través de la columna. Además, estos cuentan con tuberías (por lo general de plástico o metal), inyectores (por donde entra la muestra y la fase móvil) y con una gran variedad de columnas, entre otros componentes.

## 2.4 Límites o especificaciones

En los productos de origen natural se establecen ciertos límites seguros de tolerancia a la presencia de microorganismos, metales pesados, residuos solventes, pesticidas, cannabinoides, etc. A continuación se mencionan dichos límites.

### 2.4.1 Especificaciones microbiológicas

La presencia de microorganismos es normal en cualquier producto natural, pero para el cannabis la exposición microbial a través de su uso y las infecciones, son raras de ver considerando la prevalencia del uso y la exposición a él.

Para el cannabis los límites de tolerancia para los contaminantes microbianos y fúngicos deben de ser consistentes con las regulaciones federales e internacionales pertinentes en cada lugar como se muestra en la siguiente tabla.

**Tabla 2. Especificaciones microbianos y fúngicos recomendados para el consumo oral de productos botánicos en EE.UU**

	Total de bacterias aeróbicas	Total de levaduras y moho	Total de coliformes	Bacterias Gram negativas tolerantes a la bilis	E.coli y salmonella spp.
<b>Materiales no procesados</b>	$10^5$	$10^4$	$10^3$	$10^3$	No detectado en 1 g
<b>Materiales procesados</b>	$10^5$	$10^4$	$10^3$	$10^3$	No detectado en 1 g
<b>CO<sub>2</sub> y extractos a base de solventes</b>	$10^4$	$10^3$	$10^2$	$10^2$	No detectado en 1 g

Adicional a estos límites recomendados, se deben tomar en cuenta otros límites para uso de cannabis por parte de pacientes inmunodeprimidos. Los microbios como el *Aspergillum* spp., por ejemplo, pueden ser transmitidos a través de la inhalación y son de suma preocupación en pacientes con condiciones médicas específicas (ej, enfermedad granulomatosa crónica y fibrosis quística), y cuando se emplean tratamientos específicos.

## 2.4.2 Límites de pesticidas

Para una mayor información sobre estos límites, dirigirse a la USP.

**Tabla 3. Pesticidas usados comúnmente en la cultivación de cannabis.** <sup>(1)</sup>

Pesticida	Usos	Método analítico de residuos (RAM)
Abamectina	Insecticida/Acaricida	LC-FLD <sup>1</sup> ;LC-MS/MS <sup>2</sup>
Acequinocyl	Insecticida/Acaricida	LC/MS/MS <sup>2</sup>
Bifenazate	Acaricida	LC <sup>1</sup> ;LC-MS/MS <sup>2</sup>
Bifentrina (piretroide sintético)	Insecticida	GC-ECD <sup>1</sup> ;GC-MS/MS <sup>2</sup>
Cloruro de clomequat	Regulador de crecimiento	IC, LC – MS/MS <sup>2</sup>
Ciflutrina (piretroide sintético)	Insecticida	LC <sup>2</sup> , GC – MS/MS <sup>2</sup>
Daminozida	Regulador de crecimiento	Espectroscopia UV LC – MS/MS <sup>2</sup>
Etoxazol	Acaricida	GC – MS(/MS <sup>1</sup> )
Fenoxicarb	Insecticida	LC/UV; LC – MS/MS <sup>2</sup>
Imazalil	Fungicida	GC – ECD; LC – MS/MS <sup>2</sup>
Imidacloprid	Insecticida	LC – MS/MS <sup>2</sup>
Miclobutanil	Fungicida	GC – ECD; GC – NPD; GC – MS/MS <sup>2</sup> ; LC – MS/MS <sup>2</sup>
Paclobutrazol	Regulador de crecimiento/ fungicida	LC – MS/MS <sup>2</sup>
Piretrina	Insecticida	GC – ECD
Spinosad	Insecticida	LC – MS/MS
Spiromesifen	Insecticida	GC – MS; LC – MS/MS <sup>2</sup>
Spirotetramat	Insecticida	LC/LC – MS/MS <sup>2</sup>

ECD: detector de captura de electrones; FLD: detector de fluorescencia; GC: cromatografía de gas; LC: cromatografía líquida; MS: espectrometría de masas; NMR: resonancia magnética nuclear; NPD: detector de nitrógeno y fósforo.

## 2.4.3 Límites cannabinoides

Para los límites de los cannabinoides, exceptuando el THC, se tiene como referencia la concentración que indica la etiqueta. La variación de dicha concentración debe estar entre el 90% y el 110% de lo que especifica la etiqueta, según los lineamientos de la USP para productos farmacéuticos.

El límite de THC está establecido por el decreto 613 del 2017, por el cual se dicta que el cannabis psicoactivo debe tener menos del 1 % de THC en peso seco, en adelante es considerado psicoactivo.<sup>(8)</sup>

#### **2.4.4 Límites de aflatoxinas**

Los límites para este contaminante presente en productos derivados del cannabis no están establecidos por la ley en Colombia, por consiguiente se puede tomar como referencia la resolución 4506 de 2013 por la cual se establecen los niveles máximos de contaminantes en los alimentos destinados al consumo humano.<sup>(32)</sup> De igual modo, existen normas técnicas de aplicación voluntaria, que establecen el contenido máximo de aflatoxinas totales en alimentos para consumo humano de  $10 \mu\text{g kg}^{-1}$ .<sup>(35)</sup> Asimismo, se puede tomar como referencia la ley de otros países que establecen dichos límites en alimentos. No obstante se debe tener en cuenta que, según las Naciones del Reino Unido, la exposición a aflatoxinas procedente de cualquier fuente debería ser la más baja razonablemente posible debido a sus graves consecuencias en la salud.<sup>(34)</sup>

Generalmente en Latinoamérica y en Estados Unidos se establece un límite total de aflatoxinas de  $20 \mu\text{g kg}^{-1}$ .<sup>(35, 37)</sup> Dicho límite también está armonizado en MERCOSUR para alimentos no tan procesados como el maní crudo o tostado, harinas, maíz, etc. Mientras que para la leche se establece sólo el límite para aflatoxina M1 de  $0.5 \mu\text{g kg}^{-1}$  para su presentación líquida, y de  $5 \mu\text{g kg}^{-1}$  para su presentación en polvo.<sup>(36)</sup>

Finalmente, se puede referenciar el límite total de aflatoxinas de  $20 \mu\text{g kg}^{-1}$  establecido federalmente por los estados de California y Nevada, para productos derivados del Cannabis y material vegetal.<sup>(38, 39)</sup>

#### **2.4.5 Límites de metales pesados**

El cannabis cuando crece en un suelo contaminado por lo general acumula muchos metales pesados, los cuales se han propuesto como candidatos para la biorremediación de lugares donde se depositan desechos tóxicos.

#### **2.4.6 Límites de solventes**

Según la ICH (Conferencia internacional de armonización) la mayoría de solventes están clasificados en tres clases. Los disolventes de clase I son sustancias carcinógenas, tóxicas y peligrosas para el medio ambiente, como el benceno, tetracloruro de carbono, 1,2 dicloroetano y demás, que deben ser evitados en la fabricación de productos farmacéuticos herbales. Los disolventes clase II y III son clasificados según su nivel relativo de toxicidad, para los de clase dos (disolventes que deben limitarse) son establecidos límites para cada uno de ellos basados en la exposición diaria permitida, mientras que los de clase tres (disolventes con bajo potencial tóxico) en general tienen un límite de 50 mg/día. Para los solventes que no posean clasificación debe ser evaluado su riesgo individualmente por el fabricante.<sup>(1)</sup>

**Tabla 4. Límites seguros para disolventes residuales Clase I.** <sup>(40)</sup>

Disolvente	Límite de concentración (ppm)	motivo
Benceno	2	Carcinógeno
Tetracloruro de carbono	4	Tóxico y presenta riesgos para el medio ambiente
1,2-Dicloroetano	5	Tóxico
1,1-Dicloroetano	8	Tóxico
1,1,1-Tricloroetano	1500	Presenta riesgos para el medio ambiente

**Tabla 5. Límites seguros para disolventes residuales de clase II.**

Disolvente	EDP (mg/día)	Límite de concentración (ppm)
Acetonitrilo	4,1	410
Clorobenceno	3,6	360
Cloroformo	0,6	60
Cumeno	0,7	70
Ciclohexano	38,8	3880
1,2-Dicloroetano	18,7	1870
1,2-Dimetoxietano	1,0	100
N,N-Dimetilacetamida	10,9	1090
N,N-Dimetilformamida	8,8	880
1,4-Dioxano	3,8	380
2-Etoxietanol	1,6	160
Etilenglicol	6,2	620
Formamida	2,2	220
Hexano	2,9	290
Metanol	30,0	3000
2-Metoxietanol	0,5	50
Metilbutilcetona	0,5	50
Metilciclohexano	11,8	1180
Cloruro de metileno	6,0	600
▲ Metilisobutilcetona	45	4500▲

<b>N-Metilpirrolidona</b>	5,3	530
<b>Nitrometano</b>	0,5	50
<b>Piridina</b>	2,0	200
<b>Sulfolano</b>	1,6	160
<b>Tetrahidrofurano</b>	7,2	720
<b>Tetralina</b>	1,0	100
<b>Tolueno</b>	8,9	890
<b>Tricloroetileno</b>	0,8	80
<b>Xileno<sup>a</sup></b>	21,7	2170

**Tabla 6. Disolventes residuales de clase III.**

Ácido acético	Acetato de isobutilo
Acetona	Acetato de isopropilo
Anisol	Acetato de metilo
1-Butanol	3-Metil-1-butanol
2-Butanol	Metiletilcetona
Acetato de butilo	2-Metil-1-propanol Pentano
terc-Butil metil éter	Pentano
Dimetil sulfóxido	1-Pentanol
Etanol	1-Propanol
Acetato de etilo	2-Propanol
Éter etílico	Acetato de propilo
Formiato de etilo	Trietilamina
Ácido fórmico	Heptano

## 2.5 Métodos de extracción

En la industria del cannabis existen diversos métodos para la extracción de cannabinoides, algunos usan solventes otros no y hay unos que son asistidos por máquinas. Asimismo, cada uno de estos métodos es usado para la obtención de un extracto cannábico, pero entre todos estos hay algunos más eficientes que otros, en cuanto a pureza de la extracción, el tiempo que se demora, la eficiencia en cuanto a lo económico, etc.

Algunos de los métodos más usados en esta industria son las extracciones con solventes (etanol, metano, propano, hexano, etc), en algunas ocasiones asistidas por máquinas que aumentan la eficacia de la extracción. Otra técnica muy utilizada es la extracción por fluidos supercríticos, el cual consiste en calentar y pasteurizar dióxido de carbono líquido hasta un determinado nivel esperando que se vuelva supercrítico, es decir, que tenga propiedades tanto de líquido como de gas, esto le permite disolver o extraer materiales de determinada muestra, que por lo general son sólidas y complejas.

**2.5.1 BHO (butane hash oil):** Este método de extracción se realiza utilizando el gas butano como **solvente químico**. Además, se pueden utilizar otros hidrocarburos como el propano, el hexano o el dimetil/methoximetano, más conocido como Dexso o DHO.

De la misma forma, el método de extracción es el mismo independientemente del solvente químico que se utilice, pero las características del concentrado (color, densidad, viscosidad, viscoelasticidad, textura, gusto, aroma, potencia, etc.) sí varían según el solvente. <sup>(52)</sup>

Para este método, la materia vegetal se coloca en un contenedor hermético, se inyecta el solvente químico bajo presión en el interior y éste atraviesa la materia vegetal, lo que permite la extracción y recogida de los aceites esenciales de la planta. Estos aceites esenciales contienen los principios activos que nos interesan: cannabinoides + terpenos + flavonoides. Luego hay que eliminar la parte residual del disolvente, proceso fundamental para que la extracción sea de buena calidad. La eliminación del solvente se realiza por evaporación y para ello hay que calentar la extracción a la temperatura más baja a la que el solvente pueda evaporarse para que no se degraden las propiedades organolépticas de la extracción. Por otra parte, se puede decir que uno de los problemas que puede tener este tipo de extracción es que puede contener rastros de butano o algunos otros contaminantes como pesticidas. <sup>(52)</sup>

**2.5.2 Extracción con Soxhlet:** La extracción con Soxhlet implica un proceso de destilación, que tiene lugar en presencia del disolvente de etanol. Este último solubiliza los fitoquímicos presentes en la planta con la que se relaciona químicamente y los extrae continuamente. Las condiciones de reflujo de disolventes promueven la descarboxilación del ácido

$\Delta$ 9-tetrahidrocannabinólico y canabidiólico y de otros fitocannabinoides ácidos en las formas de descarboxilación correspondientes. <sup>(53)</sup>

**2.5.3 Extracción asistida por microondas (EAM):** La EAM es un método de extracción basado en la irradiación por microondas para calentar la mezcla muestra/solvente a fin de facilitar y acelerar la extracción de los compuestos presentes en la planta. Las muestras, suspendidas en etanol, se someten a altas temperaturas a fin de facilitar la descarboxilación de los fitocannabinoides presentes en forma ácida. <sup>(53)</sup>

**2.5.4 Extracción por fluidos supercríticos CO<sub>2</sub>:** El método de extracción con fluidos supercríticos (CO<sub>2</sub>) es probablemente el que permite obtener las extracciones de mayor calidad y de mayor pureza. Además, esta técnica no requiere el uso de solventes químicos, y la extracción se realiza con la acción del dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) transformado en fluido supercrítico. El aceite resultante contiene los cannabinoides y los terpenos de la planta de marihuana, tal y como lo hacen los solventes a base de hidrocarburos (butano, propano, hexano). <sup>(52)</sup>

Esta extracción se realiza con CO<sub>2</sub> supercrítico (disolvente A) y etanol (disolvente B) combinados en 3 sistemas de disolventes diferentes. Se realizan tres extracciones consecutivas en cada muestra hasta la completa elución de todos los fitocannabinoides. Las fracciones resultantes son entonces reunidas y concentradas hasta la sequedad a 25 °C. <sup>(53)</sup>

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

Se pretende realizar una revisión bibliográfica sistemática sobre el Cannabis y las técnicas utilizadas en el control de calidad de sus productos derivados, en las bases de datos y revistas de los que la Universidad dispone y otras plataformas, para posteriormente seleccionar las técnicas más adecuadas que serán incluidas en el marco teórico.

En el segundo curso del seminario de investigación, se analizaron tres productos a base de cannabis cuya consecución se describirá posteriormente. Para ello, se hizo uso de la cromatografía de gases para el análisis de cannabinoides y de disolventes residuales insolubles, en las instalaciones del CECIF. Además en el Laboratorio de Microbiología Industrial ICMT CES, se realizó el análisis microbiológico a dichos productos sujetos a investigación.

Por último, en el siguiente curso de seminario de investigación, se realizará un folleto que contenga la información más relevante sobre la importancia del control de calidad en este tipo de productos, y las consecuencias que conlleva no hacerlo, además de una breve descripción de lo que es un protocolo y cómo utilizarlo, para que luego el fabricante pueda referirse al protocolo completo.

#### 3.1 Cromatografía de capa fina para la caracterización de Cannabis y sus principales cannabinoides

**Tabla 7.** Cromatografía de capa fina.<sup>(1)</sup>

TÉCNICA ANALÍTICA	Cromatografía en capa fina (TLC)
Fase estacionaria	Se utilizan placas C18 (UV254) TLC de 150 µm x 10 cm x 10 cm
Detector	UV
Longitud de Onda (nm)	254 nm
PREPARACIÓN DE SOLUCIONES	
Reactivo de Fast Blue	Disolver 0.5 g de Fast Blue en 100mL de agua destilada.
Vainillina/H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Disolver 6 g de vainillina en 90 mL de etanol (al 95 %), luego agregar 10mL de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (al 98 %). Debe mantenerse frío por su inestabilidad.
Fase Móvil	Debe tener una concentración de 75:25 (v:v) metanol/agua con 0.1 % de ácido acético glacial.
Solución Diluyente	Metanol.

<b>Preparación de estándares</b>	Los estándares de Cannabis están disueltos en metanol a una concentración de 1 mg/mL.
<b>Estabilidad de las soluciones estándar</b>	Las soluciones de CBD, CDG y CBN son estables en metanol a temperatura ambiente y bajo condiciones de congelación. El de THC, THCV y CBC son estables en metanol solamente cuando están congelados, y los compuestos ácidos son estables solamente en un congelador, por lo tanto, deben ser transportados y almacenados en dichas condiciones.
<b>Muestra</b>	Pesar aproximadamente 100 mg de Cannabis seco en polvo y extraerlo por maceración con sonicación en 10 mL de diclorometano por una hora. Filtrar el extracto y evaporar la solución con nitrógeno. Disolver de nuevo el residuo en metanol hasta llegar a la concentración de 10 mg/mL.
<b>Descarboxilación de las formas ácidas (opcional)</b>	Para realizar este proceso, por ejemplo, para convertir el THCA en THC, se calienta el extracto seco a 120 ° C por dos horas, y ajustar la concentración hasta 10 mg/mL.
<b>Aplicación de la muestra</b>	Aplicar 5 µL de las muestras preparadas y 2 µL de los estándares, en la placa en bandas de 5 mm a 2 mm de separación entre cada una. Estas deben estar a 8 mm del borde inferior y a 15 mm de los bordes laterales. Para la visualización de ambas preparaciones deben ser preparadas en placas separadas.
<b>Desarrollo</b>	Preparar una cámara de elución (14 cm x 14 cm x 8 cm) con papel para filtrar o papel cromatográfico. Añadir la suficiente cantidad de la fase móvil para asegurar que el papel está cubierto hasta una altura de mínimo 5 mm (aproximadamente 25 mL) y dejar saturar por 15 min. Medir y marcar la distancia de revelado a 60 mm desde la posición de aplicación. Introducir la placa en la cámara y esperar a que el disolvente desarrollado alcance la marca hecha. Posteriormente remover de la cámara y secar en un horno durante dos minutos a 70 ° C.
<b>Detección de los cannabinoides</b>	Observar las placas bajo rayos UV de 254 nm, rociar un conjunto de placas con la solución de Fast Blue y otro de ellos con la solución de vainillina/H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , y posteriormente visualizarlas bajo luz blanca. Para la identificación de los principales cannabinoides se puede utilizar cualquiera de las dos soluciones anteriores y comparar las placas con las de los estándares.

### 3.2 Cromatografía de gases para análisis de cannabinoides

**Tabla 8.** Cromatografía de gases para análisis de cannabinoides. Este método fue establecido por los Laboratorios CECIF.

<b>PREPARACIÓN DE SOLUCIONES</b>	
<b>Muestra</b>	Se agregan 250 mg de la muestra (producto a base de cannabis) a un balón aforado de 10 mL, luego se le adiciona 0,1 mL del estándar madre de colesterol (estándar interno) a 5 mg/ml y se lleva al aforo con el disolvente. Esto se hace por duplicado para cada muestra.
<b>Disolvente</b>	Cloroformo puro
<b>INFORMACIÓN DE LAS SUSTANCIAS DE REFERENCIA</b>	

Nombre	Cannabidiol	Tetrahidrocannabinol	Cannabinol	Colesterol
Pureza	100%	1 mg/mL	1 mg/mL	98,00%
CONDICIONES				
Columna	(HP-5) ZB-5MS 30 m x 250 µm x 0,25 µm			
Fase móvil	Helio.			
Velocidad de flujo	35 cm/seg			
Volumen de inyección	1 µL			
Temperatura del inyector	240 °C			
Temperatura del detector	260 °C			
Temperatura de la columna	Rampa			
Temperatura inicial (°C)	Rampa de temperatura (°C/min)	Temperatura final (°C)	Tiempo de espera (hold time) a la temperatura final (min)	
170	-	170	2	
170	25	250	10	
250	80	325	9	

### 3.3 Cromatografía de gases para análisis de disolventes residuales insolubles

**Tabla 9.** Cromatografía de gases para análisis de disolventes residuales. Este método fue establecido por los Laboratorios CECIF.

TÉCNICA ANALÍTICA:	Cromatografía de gases (FID)				
Columna	Sílice fundida de 0,32 mm ID x 30 m recubierta con una capa de fase G43 de 1,8 µm				
Temperatura Columna	40 °	Temperatura inicial °C	Rampa de Temperatura	Temperatura final	Tiempo de espera (min)

<b>Temperatura inyector</b>	140 °				
<b>Temperatura Detector</b>	250 °	40	-	40	20
<b>Velocidad lineal del gas portador</b>	35 cm/s				
<b>Relación de partición</b>	1:5	40	10	240	20
<b>Volumen de Inyección</b>	1000 ml				
<b>Gas portador</b>	Helio	<b>Rampa</b>			
<b>Parámetros operativos para el muestreador de fase gaseosa (Headspace)</b>					
<b>Parámetros de procedimiento</b>	Configuración instrumental del muestreador de fase gaseosa				
	Set 3				
Temperatura de equilibrio (°C)	80				
Tiempo de equilibrio (min)	45				
Temperatura de transferencia (°C)	105				
Gas transportador de head space	10 psi				
Volumen de inyección (ml)	1				
<b>PREPARACIÓN DE SOLUCIONES</b>					
Nota: <u>Antes de la preparación de las muestras realizar prueba de solubilidad.</u> Tenga en cuenta que la solubilidad del Ácido Caprílico 789 mg / L en agua (a 30 ° C)					
<b>Muestras Insolubles en Agua</b>					
Nota: Al transferir las soluciones, colocar la punta de la pipeta justo por debajo de la superficie del líquido, y luego dispensar.					
<b>Blanco</b>	Transferir 1,0 ml de dimetilformamida a un vial para muestreo de fase gaseosa apropiado que contenga 5,0 ml de agua tipo I , tapar, mezclar e inyectar.				
<b>Solución madre de Prueba</b>	Transferir 500 mg (exactamente pesados) de la muestra a analizar a un balón volumétrico de 10,0 ml y llevar a volumen con dimetilformamida, mezclar.				

<b>Solución de Prueba</b>	Transferir 1,0 ml de solución madre de prueba a un vial para muestreo de fase gaseosa apropiado que contenga 5,0 ml de agua tipo I, tapar, mezclar e inyectar
<b>Solución de aptitud del sistema prueba - Clase 1</b>	Solución Aptitud del Sistema: Mezclar 5,0 ml de la solución madre de prueba con 0,5 ml de la dilución intermedia reservada de la solución madre del estándar de clase 1. Transferir 1,0 ml de esta solución a un vial para muestreo de fase gaseosa adecuado, que contenga 5,0 ml de agua tipo I, tapar, mezclar e inyectar.
<b>PREPARACIÓN DE ESTÁNDARES</b>	
<b>Solución Madre del Estándar Clase 1</b>	Transferir 1 ml de la mezcla del estándar de referencia de disolventes residuales clase 1 USP a un balón volumétrico de 100,0 ml al que previamente se han agregado 80 ml de dimetilformamida, llevar a volumen con dimetilformamida y mezclar. Transferir 1,0 ml de la solución anterior a un balón volumétrico de 100,0 ml, al que previamente se le ha agregado aproximadamente 80 ml de dimetilformamida diluir, llevar a volumen con dimetilformamida y mezclar. (Nota. Reservar una porción de esta solución para la solución de aptitud del sistema de clase 1). Transferir 1,0 ml de esta de esta última solución a un balón volumétrico de 10,0 ml, diluir, llevar a volumen con dimetilformamida y mezclar.
<b>Solución Estándar Clase 1</b>	Transferir 1,0 ml de la solución madre del estándar clase 1 a un vial para muestreo de fase gaseosa apropiado que contenga 5,0 ml de agua tipo I, tapar, mezclar e inyectar.
<b>Solución Madre A del Estándar Clase 2</b>	Transferir 1,0 ml de la mezcla A del estándar de referencia de disolventes residuales clase 2 USP a un balón volumétrico de 100,0 ml al que previamente se ha agregado 80 ml de dimetilformamida, diluir, llevar a volumen con dimetilformamida y mezclar.
<b>Solución Estándar Clase 2A</b>	Transferir 1,0 ml de solución madre A del estándar clase 2 a un vial para muestreo de fase gaseosa apropiado que contenga 5,0 ml de agua tipo I, tapar, mezclar e inyectar.
<b>Solución Madre B del Estándar Clase 2</b>	Transferir 1,0 ml de la mezcla B del estándar de referencia de disolventes residuales clase 2 USP a un balón volumétrico de 20,0 ml, diluir, llevar a volumen con dimetilformamida y mezclar.
<b>Solución Estándar Clase 2B</b>	Transferir 1,0 ml de solución madre B del estándar clase 2 a un vial para muestreo de fase gaseosa apropiado que contenga 5,0 ml de agua tipo I, tapar, mezclar e inyectar.
<b>Solución Madre del Estándar Clase 3</b>	NOTA: El estándar clase 3 será usado en la evaluación del parámetro precisión intermedia. Pesar 250 mg de cada uno de los estándares clase 3 en un balón de 50,0 ml que contenga 30 ml de dimetilformamida, diluir con dimetilformamida a volumen y mezclar. Transferir 1,0 ml de la solución anterior a un balón volumétrico de 20,0 ml, al que previamente se le ha agregado aproximadamente 10 ml de agua tipo I y llevar a volumen con agua tipo I y mezclar.
<b>Solución Estándar Clase 3</b>	Transferir 1 ml de Solución Madre del estándar Clase 3 a un vial para muestreo de fase gaseosa apropiado que contenga 5,0 ml de agua tipo I, tapar y mezclar.
<b>Criterios de Aceptación</b>	

Si la respuesta de cualquier pico diferente del pico de 1,1,1-tricloroetano en la solución de prueba es MAYOR O IGUAL a la del pico correspondiente en la solución estándar de clase 1 o en cualquiera de las 2 soluciones estándar mezcla de clase 2 o si la respuesta del pico de 1,1,1-tricloroetano es MAYOR O IGUAL a 150 veces la respuesta del pico correspondiente al 1,1,1-tricloroetano en la solución estándar de clase 1, llevar a cabo el procedimiento B para verificar la identidad del pico.

APTITUD DEL SISTEMA		
Parámetro	Criterios de Aceptación	
<b>Resolución</b>	<b>Rs</b>	La resolución, entre acetonitrilo y cloruro de metileno en la solución estándar clase 2A no es menor que 1,0.
<b>Señal/Ruido Estándar clase 1</b>	<b>S/N</b>	La relación señal-ruido de 1,1,1-tricloroetano en la solución estándar de clase 1 no es menor que 5.
<b>Señal/Ruido Solución de aptitud del sistema prueba - Clase 1</b>	<b>S/N</b>	la relación señal-ruido de cada pico en la solución de aptitud del sistema prueba de clase 1 no es menor que 3.

### 3.4 Cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC)

Esta técnica puede ser utilizada para la cuantificación de THCA, THC, CBDA, CBD, CBGA, CBG y CBN, y preparaciones a base de cannabis. Validado por selectividad (capacidad de separación de los analitos), linealidad (capacidad de obtener resultados, directamente relacionado con que tanto se acerca a la concentración real de analitos en la muestra), precisión y recuperación. <sup>(1)</sup>

**Tabla 10.** HPLC.

TÉCNICA ANALÍTICA	HPLC
<b>Detector</b>	<b>Detector de arreglo de diodos:</b> Se monitorea el espectro completo desde 190-317 nm. Los cannabinoides no ácidos son detectados aproximadamente a 228 nm, y los ácidos aproximadamente a 270 nm. También es posible el uso de un detector UV estándar.
PREPARACIÓN DE SOLUCIONES	
<b>Muestra: aceite de cannabis</b>	Disolver 50 mg en 10 mL de una mezcla de metanol/cloroformo 9:1 por sonicación durante 30 minutos.
<b>Solución estándar interna</b>	Diazepam (50 mg/mL)
CONDICIONES	
<b>Estándares</b>	Para más precisión deben ser agregados por lo menos 4

	concentraciones en la curva de calibración, deben cubrir un rango de concentraciones desde 0.5 µg/mL hasta 100 µg/mL.												
<b>Estabilidad de los estándares</b>	Los estándares de CBD, CBG y CBN son estables en metanol a temperatura ambiente y a temperatura de congelación. Los estándares de THC, THCV y CBC en metanol son estables solamente a temperatura de congelación, y los estándares ácidos son solo estables en un congelador. Para su almacenamiento a largo plazo todos deben ser almacenados a -20 °C protegidos de la luz y el aire, bajo estas condiciones pueden permanecer estables hasta por 12 meses.												
<b>Equipo</b>	La técnica fue validada con un módulo ADVP de Shimadzu, equipado con autoinyector SIL-10, un enfriador de muestras y una unidad de suministro de disolvente de desgasificación al vacío en línea LC-10.												
<b>Columna</b>	Columna de fase reversa Waters X-bridge C18 (4.6 mm x 150 mm, 3.5 µm), acoplada con una precolumna 1mm Opti-Guard C18.												
<b>Temperatura de la columna</b>	30 °C.												
<b>Volumen de inyección</b>	30 µL.												
<b>Fase móvil</b>	A: formiato de amonio 50 mM (ajustado a pH de 3.37 con 10% de acetonitrilo). B: acetonitrilo al 90%.  Se inyectan de la siguiente manera <table border="1"> <thead> <tr> <th>Tiempo (min)</th> <th>B en A (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>70</td> </tr> <tr> <td>15</td> <td>90</td> </tr> <tr> <td>30</td> <td>90</td> </tr> <tr> <td>31</td> <td>70</td> </tr> <tr> <td>40</td> <td>70</td> </tr> </tbody> </table>	Tiempo (min)	B en A (%)	0	70	15	90	30	90	31	70	40	70
Tiempo (min)	B en A (%)												
0	70												
15	90												
30	90												
31	70												
40	70												
<b>Tasa de flujo</b>	1 mL/min.												
<b>Tiempo de corrida</b>	30 min.												
<b>Tiempo post-corrída</b>	6 min.												
<b>Cuantificación</b>	Se realiza previamente una curva de calibración del área bajo la curva vs. concentración, que sirve para la cuantificación usando la ecuación lineal $y = mx + c$ , donde: x = concentración del cannabinoide en la muestra (µg/mL). y = área del pico del cannabinoide. c = intercepto en y de la curva de calibración. m = Pendiente de la curva de calibración.												

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Análisis microbiológicos

A continuación se presentan los resultados de las pruebas microbiológicas requeridas en los tres productos a base de cannabis sujetos a estudio, según lo establecido por la USP 43, realizadas en el Laboratorio de Microbiología Industrial ICMT CES. Para los dos productos de uso cutáneo (denominados muestra 1 y muestra 2) se evaluó un recuento total de microorganismos aerobios mesófilos, de levaduras y mohos, y se evaluó la presencia de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*. Por otra parte, para el producto en presentación no acuosa de uso oral (producto 3) se hizo el recuento total de microorganismos aerobios mesófilos, de levaduras y mohos, y se evaluó la presencia de *Escherichia coli*.

**Tabla 11.** Recuento microbiológico para el producto 1.

PARÁMETRO MICROBIOLÓGICO	NORMA	RESULTADO (presencia o ausencia)	Especificación Presencia o Ausencia
Detección de <i>Staphylococcus aureus</i>	USP	Ausencia	Ausencia
Detección de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	USP	Ausencia	Ausencia
PARÁMETRO MICROBIOLÓGICO	NORMA	RESULTADO UFC/g o mL	Especificación UFC/g o mL
Recuento de Levaduras	USP	<10	<10
Recuento de aerobios mesófilos	USP	<10	<100
PARÁMETRO MICROBIOLÓGICO	NORMA	RESULTADO UFC/g o mL	Especificación UFC/g o mL
Recuento de Mohos	USP	<10	<10

**Tabla 12.** Recuento microbiológico para el producto 2.

PARÁMETRO MICROBIOLÓGICO	NORMA	RESULTADO (presencia o ausencia)	Especificación Presencia o Ausencia
Detección de <i>Staphylococcus aureus</i>	USP	Ausencia	Ausencia
Detección de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	USP	Ausencia	Ausencia
PARÁMETRO MICROBIOLÓGICO	NORMA	RESULTADO UFC/G o mL	Especificación UFC/G o mL
Recuento de Levaduras	USP	<10	<10
Recuento de aerobios mesófilos	USP	<10	<100

PARÁMETRO MICROBIOLÓGICO	NORMA	RESULTADO UFC/G o mL	Especificación UFC/G o mL
Recuento de Mohos	USP	<10	<10

**Tabla 13.** Recuento microbiológico para el producto 3.

PARÁMETRO MICROBIOLÓGICO	NORMA	RESULTADO (presencia o ausencia)	Especificación Presencia o Ausencia
Detección de Escherichia coli	USP	Ausencia	Ausencia
PARÁMETRO MICROBIOLÓGICO	NORMA	RESULTADO UFC/g o mL	Especificación UFC/g o mL
Recuento de Levaduras	USP	<10	<100
Recuento de aerobios mesófilos	USP	12100	<1000
PARÁMETRO MICROBIOLÓGICO	NORMA	RESULTADO UFC/g o mL	Especificación UFC/g o mL
Recuento de Mohos	USP	50	<100

## 4.2 Análisis de disolventes residuales

Se realizaron análisis de solventes residuales (procedimiento A), para cada producto por medio del método de la USP para solventes insolubles clase I, II y III como se muestra en las siguientes tablas.

**Tabla 14.** Resultados del análisis para solventes residuales por método de la USP para muestra 1.

ENSAYO	ESPECIFICACIONES	RESULTADO	MÉTODO
Disolventes Residuales (procedimiento A)	Cumple con los requisitos del capítulo general <467> de disolventes residuales de USP vigente (1) para clase I, II y para los siguientes clase III: <ul style="list-style-type: none"> <li>- Etanol</li> <li>- Acetona</li> <li>- Isopropanol</li> <li>- Éter terc-butil metílico</li> <li>- 1-propanol</li> <li>- Acetato de etilo</li> <li>- Heptano</li> <li>- 1-butanol</li> <li>- Metilisobutilcetona</li> </ul>	Conforme	USP 43

**Tabla 15.** Resultados del análisis para solventes residuales por método de la USP para muestra 2.

ENSAYO	ESPECIFICACIONES	RESULTADO	MÉTODO
Disolventes Residuales (procedimiento A)	Cumple con los requisitos del capítulo general <467> de disolventes residuales de USP vigente (1) para clase I, II y para los siguientes clase III: <ul style="list-style-type: none"> <li>- Etanol</li> <li>- Acetona</li> <li>- Isopropanol</li> <li>- Eter terc-butilmetílico</li> <li>- 1-propanol</li> <li>- Acetato de etilo</li> <li>- Heptano</li> <li>- 1-butanol</li> <li>- Metilisobutilcetona</li> </ul>	Conforme	USP 43

**Tabla 16.** Resultados del análisis para solventes residuales por método de la USP para muestra 3.

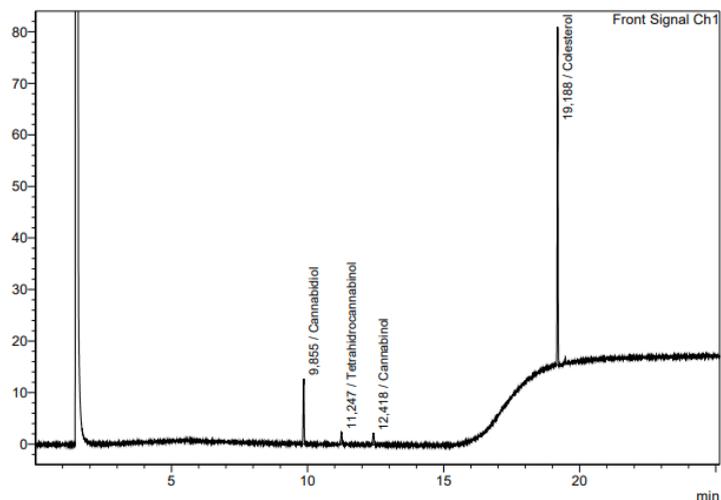
ENSAYO	ESPECIFICACIONES	RESULTADO	MÉTODO
Disolventes Residuales (procedimiento A)	Cumple con los requisitos del capítulo general <467> de disolventes residuales de USP vigente (1) para clase I, II y para los siguientes clase III: <ul style="list-style-type: none"> <li>- Etanol</li> <li>- Acetona</li> <li>- Isopropanol</li> <li>- Éter terc-butilmetílico</li> <li>- 1-propanol</li> <li>- Acetato de etilo</li> <li>- Heptano</li> <li>- 1-butanol</li> <li>- Metilisobutilcetona</li> </ul>	Conforme	USP 43

### 4.3 Análisis y cuantificación de cannabinoides

A continuación se presentan los resultados obtenidos mediante el método de cromatografía de gases para el análisis de cannabinoides en el CECIF. Dicho método fue descrito previamente en la metodología.

En primer lugar, se realiza el análisis de los estándares para la obtención de las curvas de calibración de los gráficos 6, 7 y 8. Posteriormente, para el análisis de cada producto, se tomaron dos muestras de cada uno y se obtuvieron los cromatogramas mostrados en los gráficos del 9 al 14.

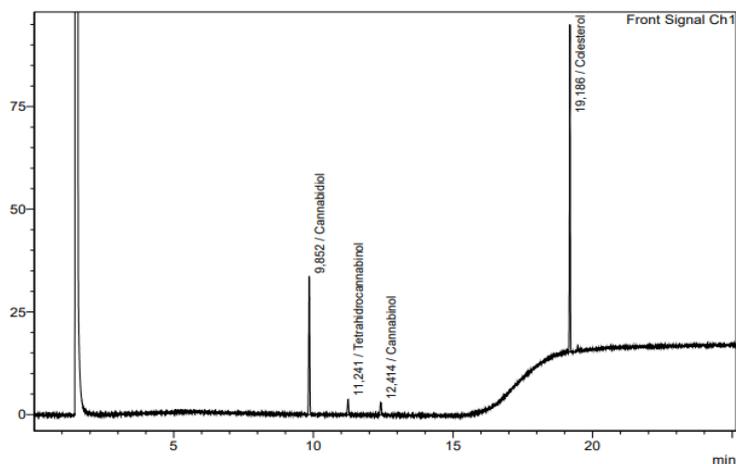
**Gráfico 1.** Cromatograma para la curva de calibración del estándar nivel 1.



**Tabla 17.** Corresponde a los resultados de la gráfica 1 para el estándar 1.

Peak #	Tiempo de Retención	Área	Nombre	Platos teóricos	Tailing factor	Resolución (USP)	S/N
1	9,855	30933	Cannabidiol	327039	0,995	--	40,07
2	11,247	7286	Tetrahydrocannabinol	291673	0,973	18,283	7,33
3	12,418	7978	Cannabinol	267623	1,028	13,061	6,92
4	19,188	126427	Colesterol	2339049	0,991	92,608	206,72

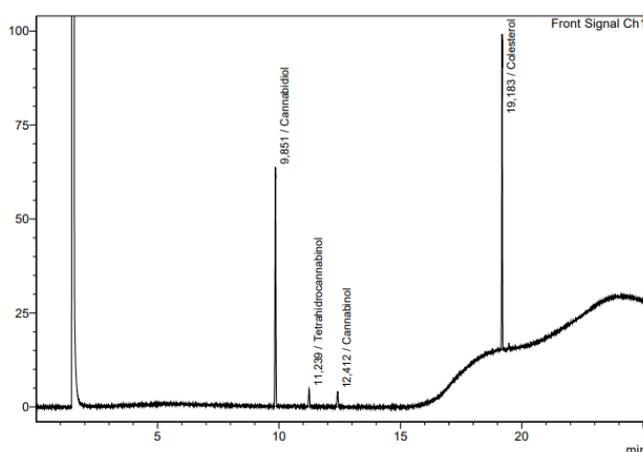
**Gráfico 2.** Cromatograma para la curva de calibración del estándar nivel 2.



**Tabla 18.** Corresponde a los resultados de la gráfica 2 para el estándar 2.

Peak #	Tiempo de Retención	Área	Nombre	Platos teóricos	Tailing factor	Resolución (USP)	S/N
1	9,852	84178	Cannabidiol	379124	1,000	--	136,69
2	11,241	11369	Tetrahidrocannabinol	351437	0,944	19,874	15,36
3	12,414	10524	Cannabinol	363419	1,060	14,817	12,21
4	19,186	149639	Colesterol	387519	0,961	102,583	313,87

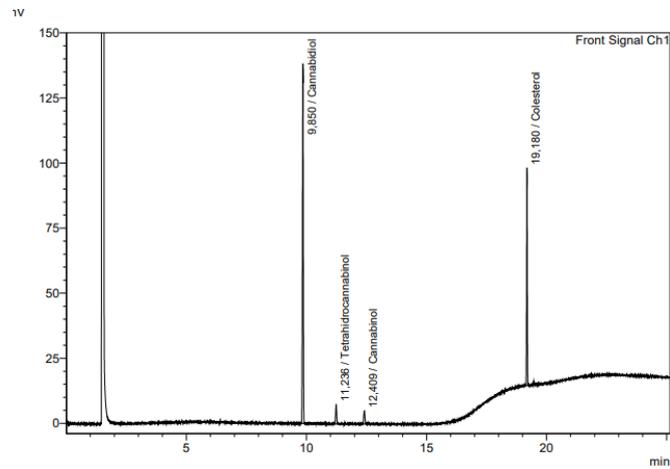
**Gráfico 3.** Cromatograma para la curva de calibración del estándar nivel 3.



**Tabla 19.** Corresponde a los resultados de la gráfica 3 para el estándar 3.

Peak #	Tiempo de Retención	Área	Nombre	Platos teóricos	Tailing factor	Resolución (USP)	S/N
1	9,851	152163	Cannabidiol	361536	0,989	--	213,81
2	11,239	13569	Tetrahidrocannabinol	325909	1,023	19,245	15,93
3	12,412	14338	Cannabinol	287754	1,067	13,687	14,02
4	19,183	154830	Colesterol	2414427	0,974	95,424	280,05

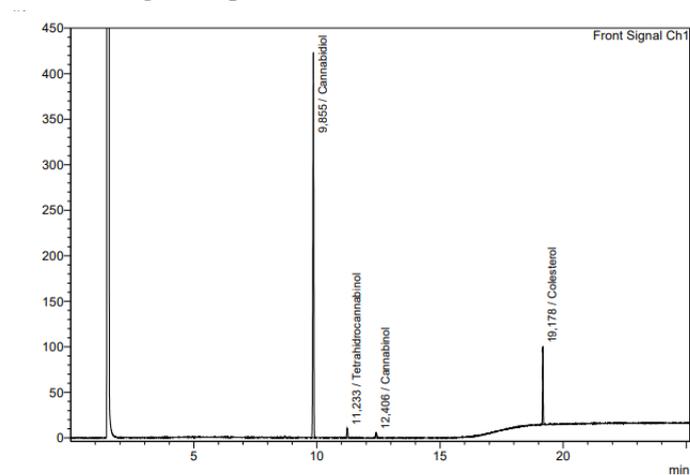
**Gráfico 4.** Cromatograma para la curva de calibración del estándar nivel 4.



**Tabla 20.** Corresponde a los resultados de la gráfica 4 para el estándar 4.

Peak #	Tiempo de Retención	Área	Nombre	Platos teóricos	Tailing factor	Resolución (USP)	S/N
1	9,850	335224	Cannabidiol	375073	0,957	--	444,15
2	11,236	22021	Tetrahidrocannabinol	346815	0,993	19,708	23,99
3	12,409	17615	Cannabinol	315156	1,003	14,242	16,54
4	19,180	155677	Colesterol	2196450	0,989	96,603	272,06

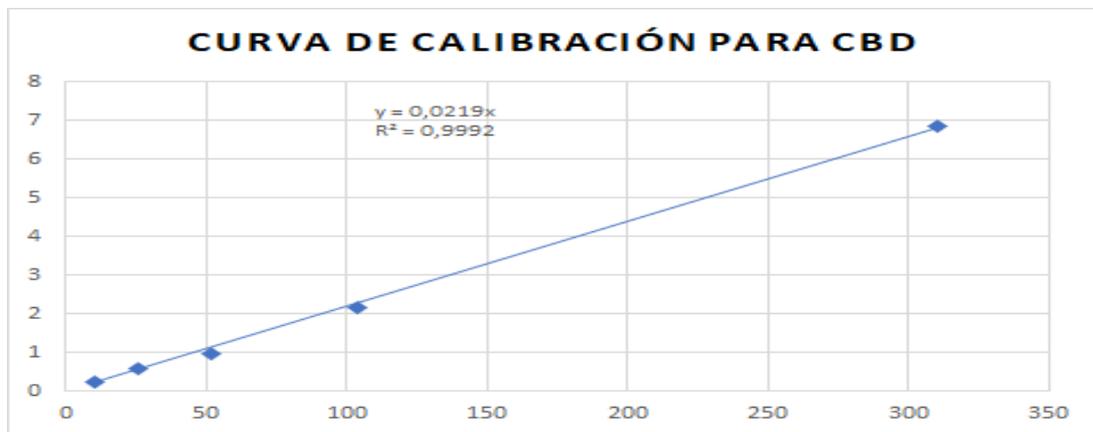
**Gráfico 5.** Cromatograma para la curva de calibración del estándar nivel 5.



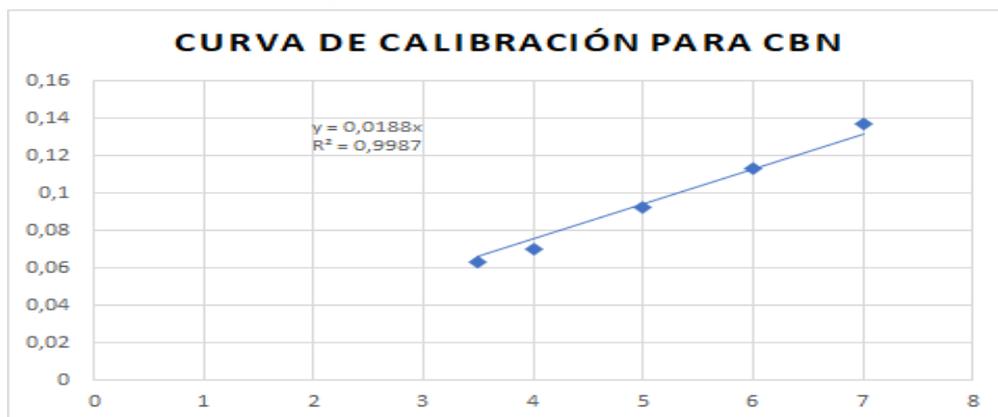
**Tabla 21.** Corresponde a los resultados de la gráfica 5 para el estándar 5.

Peak #	Tiempo de Retención	Área	Nombre	Platos teóricos	Tailing factor	Resolución (USP)	S/N
1	9,855	1054993	Cannabidiol	360941	0,896	--	1462,85
2	11,233	30788	Tetrahidrocannabinol	348008	0,999	19,435	36,11
3	12,406	21102	Cannabinol	258253	1,002	13,497	20,74
4	19,178	153594	Colesterol	2532874	0,975	92,856	283,32

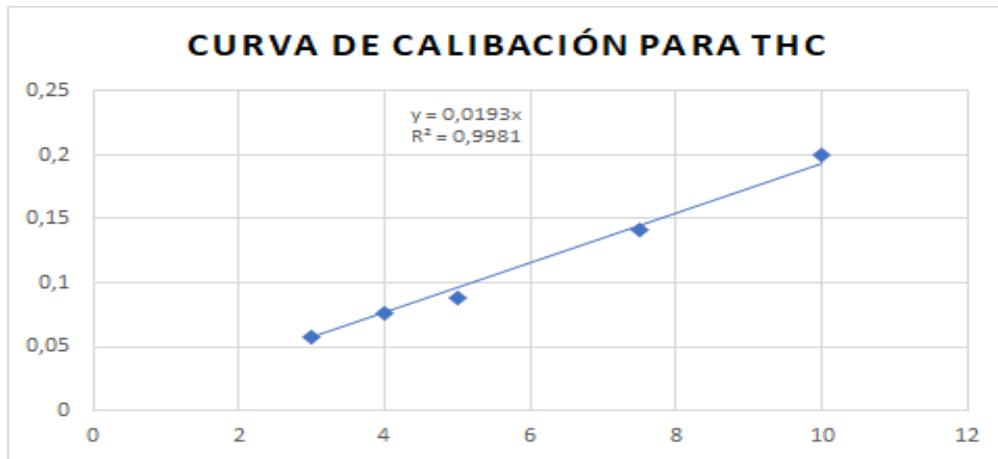
**Gráfico 6.** Curva de calibración para CBD.



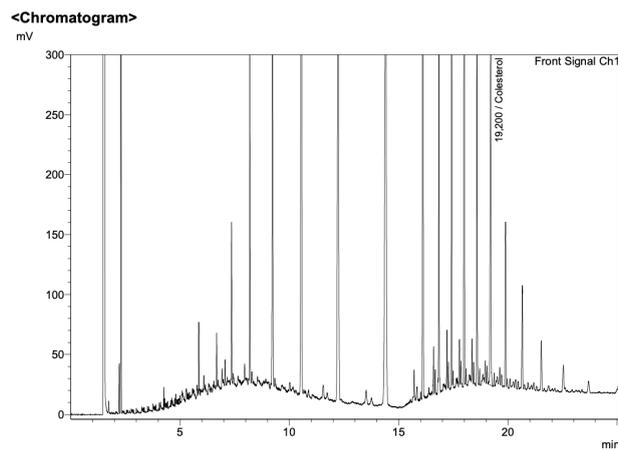
**Gráfico 7.** Curva de calibración para CBN.



**Gráfico 8.** Curva de calibración para THC.

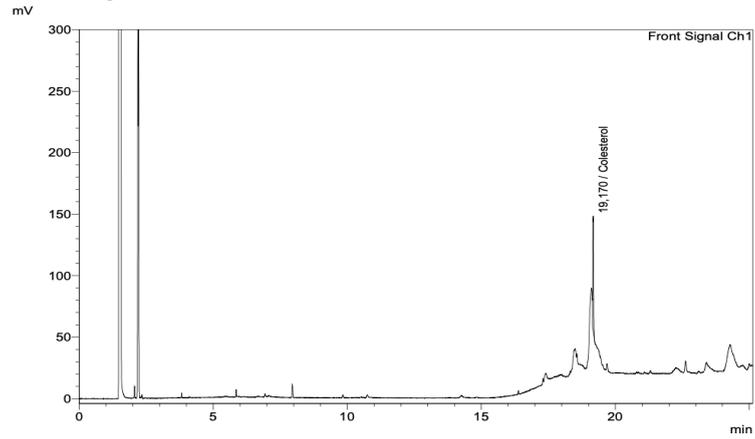


**Gráfico 9.** Cromatograma obtenido para la muestra 1.



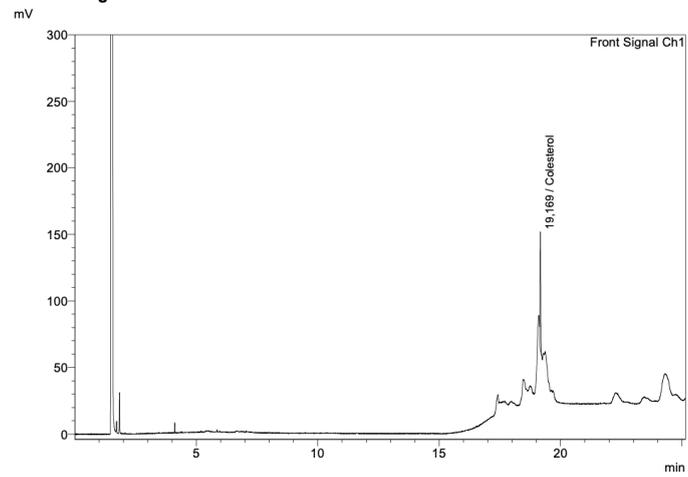
**Gráfico 10.** Cromatograma obtenido para la muestra 2.

<Chromatogram>



**Gráfico 11.** Cromatograma obtenido para la muestra 3.

<Chromatogram>



## 5. DISCUSIÓN

Para el presente estudio se adquirieron tres productos a base de cannabis en diferentes lugares de fácil acceso en el centro de Medellín, de los cuales solo uno tenía registro sanitario otorgado por INVIMA. Sin embargo, tras consultarlo resultó ser falso.

En cuanto a la apariencia, cabe notar que uno de los tres productos no estaba debidamente sellado (Muestra 2), y otro de ellos que sí estaba en su material de empaque, al destaparlo se pudo evidenciar que parte del producto se encontraba esparcido alrededor de la tapa del mismo. Por otro lado, los dos productos de uso tópico presentaban un color verde, aparentemente artificial, que puede indicar la presencia de colorantes. Igualmente, la muestra presenta un olor mentolado. Asimismo, el producto de uso oral presentaba un color verde opaco y un olor tenue no objetable.

En relación con la presentación física de los productos, cabe analizar si dichos productos se ajustan al Decreto 2092 de 1986 por el cual se reglamentan parcialmente los Títulos VI y XI de la Ley 09 de 1979, en cuanto a elaboración, envase o empaque, almacenamiento, transporte y expendio de Medicamentos, Cosméticos y similares. Partiendo del artículo 51 de dicha norma, se logra evidenciar un incumplimiento de los preceptos jurídicos que determinan la manera en cómo se debe nombrar los productos de índole farmacéutico, pues se establece por regla que dichos productos no pueden inducir a engaño o al comprador del mismo, las denominaciones que establezcan de manera equivocada las indicaciones farmacológicas, aquellas que solo presenten iniciales o números, acompañados con una cifra, sabiendo que existe una excepción, aquellas denominaciones que no guardan relación alguna con el producto, los que establezcan títulos académicos o hagan referencia a una persona natural. Es importante señalar que no se podrá otorgar el respectivo registro sanitario a una misma persona cuando está presente un medicamento con diferente composición.

Para los productos analizados se observa cómo se utiliza un lenguaje que puede inducir a error ya que muestran denominaciones exageradas o milagrosas (producto 3). De igual forma, la denominación viene acompañada por unas imágenes que no están permitidas por precepto normativo y por lo tanto, no debería ser otorgado el registro sanitario.<sup>(51)</sup>

Con respecto a la pomada (Muestra 1) se evidenció un falso registro sanitario otorgado por el INVIMA, por lo que incumple con el Decreto 2092 de 1986. Dicho registro entonces no es válido ante el ordenamiento jurídico. Esto puede partir del hecho de que la composición farmacológica del producto no sea acorde con la denominación establecida, siendo esto la causa principal de establecer o de incorporar un registro falso.

Por otra parte, desde los estudios realizados se observa como el ungüento (muestra 2) presenta una consistencia y olor contrarios al común y por lo tanto su misma composición es dudosa. Esto genera entonces una notable confusión para el comprador al no saber si ese producto cuenta con los porcentajes de cannabis determinados por la ley o si por el contrario tiene otra composición química.

Adicional a lo anterior, según el artículo 5 de este Decreto, se entiende como producto fraudulento aquel elaborado por un laboratorio farmacéutico que no tenga registro sanitario de funcionamiento o autorización para su fabricación, el que no proviene del titular del registro sanitario, del laboratorio fabricante o del distribuidor legalmente autorizado, asimismo, aquel cuyo envase o empaque no hubiere sido aprobado o cuya rotulación es diferente a la aprobada, el que hubiere sido introducido al país sin cumplir los requisitos legales exigidos al efecto, y el que tenga la marca, apariencia o características generales de un producto legítimo y oficialmente aprobado, sin serlo.

A partir de los resultados expuestos anteriormente se logró evidenciar diferentes problemas con estos productos. Para comenzar, en los análisis microbiológicos tanto la muestra 1 y 2 cumplieron con los límites microbiológicos establecidos por la USP (ver tablas 11 y 12). Por otro lado, el producto tres (forma oral), cumple con todos los parámetros, excepto por el recuento de aerobios mesófilos con un valor aproximadamente doce veces mayor de unidades formadoras de colonias al establecido por los límites seguros (ver tabla 13). Es decir, un recuento elevado de mesófilos aerobios puede indicar que no hubo buenas prácticas de manufactura (limpieza, desinfección y control de temperatura adecuados durante los procesos de tratamiento industrial, transporte y almacenamiento), asimismo puede significar una contaminación de la materia prima, y como consecuencia la inmediata alteración del producto.<sup>(49)</sup> Sin embargo, esto no asegura la presencia de agentes patógenos, pero tampoco la descarta. Por ejemplo en la industria alimenticia un producto contaminado con un gran número de microorganismos aerobios mesófilos, aunque se desconozca si son patógenos o no se altere la apariencia del producto, se considera indeseable para el consumo. La interpretación de estos recuentos según el tipo de alimento significa que se pudieron haber

dado las condiciones ideales para el desarrollo de patógenos. Esto se puede equiparar a el producto de uso oral.<sup>(50)</sup>

Siguiendo con los resultados, en el análisis de cannabinoides se pudo concluir que gracias a los análisis cromatográficos realizados, (ver gráficos 1 a 5) no se evidenció la presencia de CBD, THC y CBN en cada uno de los productos (ver gráficos 9 a 11). Esto demuestra la no utilización de extractos de cannabis en su fabricación. Además de esto, los cálculos de la curva de calibración para la cuantificación de cannabinoides no se requirieron para interpretar los resultados, pero de igual forma se realizaron para dejar evidencia en el protocolo y que puedan ser de utilidad posteriormente.

Finalmente, para los análisis de los disolventes residuales se puede evidenciar que los productos están bajo los límites establecidos. Esto se explicaría conjuntamente con los resultados obtenidos para el análisis de cannabinoides, ya que en un principio no se necesitaron disolventes debido a que no se utilizó extracto de cannabis en los productos. Por el contrario, si los productos tuvieran cannabis, se podrían evidenciar trazas de algunos disolventes usados para su extracción.

Adicional a todo lo anterior, cabe mencionar el panorama fraudulento en el mercado del país, donde la industria farmacéutica a nivel nacional e internacional, continúa creciendo año tras año. Lo que implica a su vez una mayor comercialización de productos farmacéuticos fraudulentos, representando a fin de cuentas un problema económico y de salud pública. Según la OMS alrededor de un 40% de los medicamentos son fraudulentos en países en desarrollo como Colombia.<sup>(54)</sup> Incluso dichos productos son comercializados en mayor proporción que los ilícitos, además de que sus consecuencias pueden ser más graves para la salud debido a que el paciente no sabe que está consumiendo algo nocivo, contrariamente al caso de consumo de sustancias ilícitas.

Asimismo, las autoridades nacionales tienen el deber de llevar a cabo la farmacovigilancia. La entidad responsable de esto es el INVIMA, quien recomienda a los consumidores no comprar medicamentos o suplementos que no cuenten con registro sanitario vigente, y que todos los productos a base de cannabis lo requieren para ser comercializados. Esta entidad emite en el año cientos de alertas sanitarias sobre productos fraudulentos a base de cannabis,<sup>(55)</sup> y cuenta con las herramientas tanto para que los consumidores verifiquen la veracidad de los productos, como para realizar las respectivas denuncias de productos fraudulentos y establecimientos que los comercializan.

La problemática se ve incluso con más frecuencia en empresas que comercializan mediante internet, lo que facilita el acceso a más tipos de público, brindándoles más alcance. Instituciones como la INTERPOL y algunas otras son las encargadas de realizar operaciones para el desmantelamiento de dichos mercados, la OMS también propone estrategias contra la fraudulencia en esta modalidad de venta.

Algunas implicaciones legales que puede tener la comercialización de productos fraudulentos están dadas por el Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos, (INVIMA) y estas varían dependiendo la gravedad de la infracción, como lo son las amonestaciones, multas, decomiso de productos, suspensión o cancelación del registro de la licencia y cierre temporal o definitivo del establecimiento o servicio respectivo.<sup>(56)</sup>

Por otro lado, tanto los productores como los vendedores tienen por igual unas implicaciones legales y unas responsabilidades para con el cliente al cual le están vendiendo dicho producto; como menciona el artículo 7 de la Ley 1480 de 2011 que dispone, que es obligación de todo productor y proveedor responder por la calidad, idoneidad, seguridad y buen estado y funcionamiento de los productos. Así mismo, el artículo 10 de la citada normativa por su parte indica que, los responsables por la garantía legal son solidariamente los productores y proveedores respectivos y que, para demostrar la responsabilidad por incumplimiento a las condiciones de idoneidad y calidad, bastará con demostrar el defecto del producto.<sup>(57)</sup>

Así entonces, es lo suficientemente clara y precisa la norma, al establecer que la responsabilidad entre el productor y proveedor del bien o servicio es solidaria, lo que indica que el cumplimiento puede exigirse a cualquiera de los intervinientes en la relación comercial, para ser más precisos, a los productores, proveedores, plataformas de contacto y demás intermediarios, siempre que concurren de manera directa en la adquisición del bien o el servicio, obteniendo un provecho directo de la compra en cuestión.<sup>(57)</sup>

Recuérdese que el numeral 11 del artículo 5 del Estatuto del Consumidor, dispone que funge en calidad de proveedor o expendedor, todo aquel que de manera habitual, directa o indirectamente, ofrezca, suministre, distribuya o comercialice productos con o sin ánimo de lucro. Por lo tanto, puede exigirse responsabilidad en cuanto a las condiciones de calidad o idoneidad de un producto o servicio, a un sujeto que no hizo parte directa de la relación contractual, sin embargo, por haber producido el bien carente de calidad o idoneidad, o haber intervenido lucrándose de la relación de consumo, ya sea directa o indirectamente, será responsable ante el consumidor.<sup>(57)</sup>

Por otra parte, los peligros que puede representar este tipo de productos de composición, prácticas de cultivo y elaboración fraudulenta o indeterminada, son variados, debido a que la falta de conocimiento sobre la concentración de los cannabinoides aumenta la posibilidad de efectos adversos, que pueden ir desde mareos, somnolencia y boca seca hasta arritmias, hipotensión y otros efectos cardiovasculares, paranoia y efectos psicoactivos no deseados. Además, en pacientes de la tercera edad, pacientes pediátricos o que usan otros medicamentos, estos efectos adversos pueden ser graves.

Adicionalmente, como ya se ha mencionado antes el D9-tetrahidrocannabinol, o THC, tiene el potencial de ocasionar dependencia y adicción, particularmente cuando se usa en altas dosis en repetidas ocasiones, específicamente en personas con enfermedades psiquiátricas. Teniendo en cuenta esto y que no es posible conocer con certeza la composición de los productos sin registro sanitario y las concentraciones de este cannabinoide en especial, se dificulta entablar estrategias para un uso seguro y que reduzcan el daño que puedan ocasionar estos compuestos. Asimismo, al desconocer las prácticas de extracción y producción, se hace igualmente difícil tener información detallada sobre la presencia o ausencia de contaminantes y toxinas en estos compuestos; estos contaminantes, dependiendo de los métodos de extracción y procesamiento de los derivados del cannabis, pueden alcanzar altas concentraciones en los productos finales, afectar la salud de las personas y modular la biodisponibilidad y absorción de los cannabinoides dependiendo de la ruta de administración.

Es evidente por todo lo anterior que existe la necesidad de una regulación más estricta, entre otras estrategias para abordar el problema. Por lo tanto, cabe resaltar que los distribuidores de medicamentos son el factor más importante en este caso, por ende, es necesaria una sensibilización. La norma (Decreto 677 de 1995, Decreto único 0780 de 2016 del Ministerio de Salud y resolución 1403 de 2007 del Ministerio de Protección Social, etc.) en Colombia establece que los lugares de distribución de medicamentos deben contar con el recurso humano pertinente para la dirección técnica: químicos farmacéuticos y tecnólogos en regencia de farmacia, por lo que la ausencia de este tipo de personal es una de las falencias principales.

De igual forma, un aspecto importante es la adecuada divulgación a los consumidores de las alertas sanitarias que realiza el INVIMA. Dado que estas se realizan en redes sociales y el sitio web de la entidad, dejando por fuera a uno de los públicos más vulnerables: las personas de tercera edad, que por lo general no están familiarizadas con el internet en general. Otros medios de comunicación más convencionales como la televisión o la radio podrían ser la solución a parte de la desinformación actual. Incluso las instituciones prestadoras de salud podrían formar parte de la solución si comienzan a utilizar estrategias para informar a sus pacientes más vulnerables, un ejemplo de esto podría ser la realización de campañas informativas sobre productos naturistas y cómo reconocer signos de fraudulencia.

## **6. CONCLUSIÓN**

En primer lugar se realizó una revisión bibliográfica sobre los temas más relevantes del cannabis y sus productos derivados, de modo que, se investigó la taxonomía, la historia de la planta y sus efectos terapéuticos, efectos adversos, contaminantes y las consecuencias que pueden tener en la salud; Asimismo, se revisaron aspectos legales importantes para la comercialización de estos productos, cumpliendo así con uno de los objetivos específicos.

En segundo lugar se describieron las técnicas instrumentales de análisis y extracción, al igual que los límites de contaminantes; como pesticidas, aflatoxinas, metales pesados, disolventes, microorganismos y concentración de THC, que representan un riesgo para la salud del consumidor, siendo estos necesarios para establecer si un producto a base de cannabis es apto para el consumo humano. Para esto, se adquirieron tres productos a base de cannabis de fácil acceso para la población en general, con el fin de poner en práctica las técnicas descritas y comprobar si estos cumplen o no con los límites establecidos. Así pues, se evaluó la calidad química y microbiológica de los tres productos, y se constató que ninguno de ellos contiene

cannabis como principio activo del medicamento. Es decir que, estos productos no generan beneficio terapéutico, y a su vez, pueden representar un riesgo para la salud al no contar con el debido control de calidad.

Aunque la cantidad de muestras analizadas no logran ser representativas de la totalidad del mercado del cannabis en la ciudad de Medellín, sí se puede concluir que la problemática de salud pública es compleja al evidenciar que el 100 % de los productos analizados resultaron ser fraudulentos. Esto significa que parte de los productos a base de cannabis que están al alcance de la población, no cuentan con el debido proceso de control de calidad de medicamentos que aseguren el control de patologías en los pacientes. Por otra parte, es evidente la falta de información que existe en Colombia sobre el uso o consumo de los productos derivados del cannabis y aspectos tanto legales como terapéuticos de la planta, lo que puede llegar a poner en riesgo la salud de los consumidores. Por consiguiente se dio inicio a este proyecto, donde su objetivo principal era diseñar un protocolo analítico para el control de calidad de dichos productos, sirviendo entonces como una propuesta para garantizar su calidad y la seguridad del consumidor.

En conclusión y partiendo de lo expuesto anteriormente, se puede decir que es indispensable una concienciación de los principales responsables de la falta de control de calidad a los productos derivados del cannabis, como lo son fabricantes, comercializadores y entes reguladores, quienes deben tomar acción para encontrar soluciones a este problema de salud pública.

## 7. GLOSARIO

- THC: Tetrahidrocannabinol. El delta-9-tetrahidrocannabinol es el principal componente psicoactivo del cannabis.
- CBD: Cannabidiol. Es el componente principal de las variedades del cáñamo.
- CBG: Cannabigerol. Es un cannabinoide no psicoactivo que se encuentra mayormente en las variedades del cáñamo.
- CBN: Cannabinol. Es producto de la oxidación del THC
- CBC: Cannabicromeno. Es uno de los compuestos menos conocidos de la planta.
- THCV: Tetrahidrocannabivarina. Es un análogo del tetrahidrocannabinol, con la particular característica de tener una cadena lateral de propilo en lugar de un grupo pentilo.
- THCa: Ácido tetrahidrocannabinico
- CBDa: Ácido cannabidiolico
- Cromatografía: es un método físico que tiene como objetivo separar los distintos componentes de una mezcla compleja.

- Sistema endocannabinoide: sistema formado por un grupo de receptores cannabinoides endógenos localizados en el cerebro.
- Vainillina: es un revelador genérico usado en cromatografía.
- Fast blue: Fast Blue B Salt es una mancha que se utiliza para detectar varias enzimas, proteínas y tipos de células. También se ha utilizado como agente de pulverización en TLC.
- Split: es un modo de inyección que se emplea para determinar cantidades más pequeñas o trazas de un analito.
- Apoptosis: muerte celular.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

- (1) Rh RU. American Herbal Pharmacopoeia, Cannabis Inflorescence. American Herbal Pharmacopoeia. 2016.
- (2) Russo EB. History of cannabis and its preparations in saga, science, and sobriquet. *Chem Biodivers.* 2007;4(8):1614–48.
- (3) Klimkiewicz A, Jasinska A. The health effects of cannabis and cannabinoids. Vol. 15, *Psychiatria.* 2018. 88–92 p.
- (4) Kleckner AS, Kleckner IR, Kamen CS, Tejani MA, Janelins MC, Morrow GR, et al. Opportunities for cannabis in supportive care in cancer. *Ther Adv Med Oncol.* 2019;11:1–29.
- (5) Whiting PF, Wolff RF, Deshpande S, Di Nisio M, Duffy S, Hernandez A V., et al. Cannabinoids for medical use: A systematic review and meta-analysis. *JAMA - J Am Med Assoc.* 2015;313(24):2456–73.
- (6) Grotenhermen F, Müller-Vahl K. Das therapeutische Potenzial von Cannabis und Cannabinoiden. *Dtsch Arztebl Int.* 2012;109(29–30):495–501.
- (7) Silvestro S, Mammana S, Cavalli E, Bramanti P, Mazzon E. Use of cannabidiol in the treatment of epilepsy: Efficacy and security in clinical trials. *Molecules.* 2019;24
- (8) Ministerio de salud y protección social. Decreto 613 de 2017. 2017;1–35. Available from: [https://www.minsalud.gov.co/Normatividad\\_Nuevo/Decreto 613 de 2017.pdf](https://www.minsalud.gov.co/Normatividad_Nuevo/Decreto%20613%20de%202017.pdf)
- (9) Mazzetti, C., Ferri, E., Pozzi, M. et al. Quantification of the content of cannabiniol in commercially available e-liquids and studies on their thermal and photo-stability. *Sci Rep* 10, 3697 (2020). <https://doi-org.ces.idm.oclc.org/10.1038/s41598-020-60477-6>

- (10) Mandrioli M, Tura M, Scotti S, Gallina Toschi T. Fast Detection of 10 Cannabinoids by RP-HPLC-UV Method in Cannabis sativa L. *Molecules*. 2019 Jun 4;24(11):2113. doi: 10.3390/molecules24112113. PMID: 31167395; PMCID: PMC6600594.
- (11) Atheer Zgair, Jonathan C.M. Wong, Akmal Sabri, Peter M. Fischer, David A. Barrett, Cris S. Constantinescu, Pavel Gershkovich, Development of a simple and sensitive HPLC–UV method for the simultaneous determination of cannabidiol and  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol in rat plasma, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Volume 114, 2015, Pages 145-151, ISSN 0731-7085, <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2015.05.019>
- (12) LA “PREHISTORIA” DE LA MARIHUANA EN COLOMBIA: CONSUMO Y CULTIVOS ENTRE LOS AÑOS 30 Y 60 [Internet]. [cited 2020 Nov 20]. Available from: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0121-47722007000200008](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-47722007000200008)
- (13) Russo EB. Taming THC: Potential cannabis synergy and phytocannabinoid-terpenoid entourage effects. *Br J Pharmacol*. 2011;163(7):1344–64.
- (14) Cannabis - Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos [Internet]. [cited 2020 Aug 20]. Available from: <https://www.invima.gov.co/cannabis>
- (15) Fernández Ó. THC:CBD in Daily Practice: Available Data from UK, Germany and Spain. *Eur Neurol*. 2016;75(1):1–3.
- (16) Barrales-Cureño HJ, López-Valdez LG, Reyes C, Cetina-Alcalá VM, Vasquez-García I, Diaz-Lira OF, et al. Chemical Characteristics, Therapeutic Uses, and Legal Aspects of the Cannabinoids of Cannabis sativa: A Review. *Brazilian Arch Biol Technol* [Internet]. 2020 [cited 2020 Aug 20];63. Available from: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-89132020000100902&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-89132020000100902&tlng=en)
- (17) Mauricio J, torres A, Naranjo J. LA INDUSTRIA DEL CANNABIS MEDICINAL EN COLOMBIA [Internet]. Bogotá; 2019 [cited 2020 Aug 20]. Available from: [https://www.repository.fedesarrollo.org.co/bitstream/handle/11445/3823/Repor\\_Diciembre\\_2019\\_Ramirez.pdf?sequence=4&isAllowed=y](https://www.repository.fedesarrollo.org.co/bitstream/handle/11445/3823/Repor_Diciembre_2019_Ramirez.pdf?sequence=4&isAllowed=y)
- (18) Mandrioli M, Tura M, Scotti S, Toschi TG. Fast Detection of 10 Cannabinoids by RP-HPLC-UV Method in Cannabis sativa L. *Molecules*. 2019;24(11):1–12.
- (19) Las Naciones Unidas Contra La Droga Y El Delito O DE. Glosario de términos sobre garantía de calidad y buenas prácticas de laboratorio [Internet]. [cited 2020 Nov 14]. Available from: [www.unodc.org](http://www.unodc.org)
- (20) U.S. Food and Drug Administration. What You Need to Know (And What We’re Working to Find Out) About Products Containing Cannabis or Cannabis-derived Compounds, Including CBD [Internet]. Consumer Updates. 2020 [cited 2020 Aug 19]. p. 1–7. Available from: <https://www.fda.gov/consumers/consumer-updates/what-you-need-know-and-what-were-working-find-out-about-products-containing-cannabis-or-cannabis>
- (21) de las Naciones Unidas contra la Droga el Delito O. Métodos recomendados para la identificación y el análisis del cannabis y los productos del cannabis [Internet]. [cited 2020 Nov 9]. Available from: [www.unodc.org](http://www.unodc.org)
- (22) WHO. Aflatoxinas [Internet]. [cited 2021 Feb ]. Available from: [https://www.who.int/foodsafety/FSDigest\\_Aflatoxins\\_SP.pdf](https://www.who.int/foodsafety/FSDigest_Aflatoxins_SP.pdf)
- (23) Laboratorio de técnicas instrumentales UVa. Cromatografía de gases [Internet]. [cited 2021 Feb ]. Available from: <http://www.qfa.uam.es/qb/practicas/P6-guion.pdf>
- (24) Cromatografía en capa fina [Internet]. [cited 2021 Feb ]. Available from: <https://laboratoriotecnicasinstrumentales.es/analisis-quimicos/cromatografa-de-gases>
- (25) WHO. Arsénico [Internet]. [cited 2021 Feb ]. Available from: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/arsenic>
- (26) WHO. Cadmio. [Internet]. 2016 [cited 2021 Feb ]; Available from: [http://www.who.int/ipcs/assessment/public\\_health/cadmium/es/](http://www.who.int/ipcs/assessment/public_health/cadmium/es/)
- (27) Expuesta UP, Cuberos E, Rodríguez AI, Prieto E. Abril 2009 278 Rev. salud pública [Internet]. Vol. 11. 2009 [cited 2021 Feb ]. Available from: <http://www.scielo.org.co/pdf/rsap/v11n2/v11n2a12.pdf>
- (28) WHO. Intoxicación por plomo y salud [Internet]. [cited 2021 Feb ]. Available from: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/lead-poisoning-and-health>

- (29) Dra. M. del Puerto Rodríguez A, Dra. Suárez S, Lic. Palacio D. Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud [Internet]. [cited 2021 Feb ]. Available from: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1561-30032014000300010](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-30032014000300010)
- (30) Expuesta UP, Cuberos E, Rodríguez AI, Prieto E. Abril 2009 278 Rev. salud pública [Internet]. Vol. 11. 2009 [cited 2021 Feb 7]. Available from: [https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es\\_phs3.html](https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs3.html)
- (31) Cromatografía de líquidos HPLC [Internet]. [cited 2021 Feb 25]. Available from: <https://laboratorioteccasinstrumentales.es/analisis-quimicos/cromatografa-de-liquidos-hplc>
- (32) Ministerio de salud y protección social. Resolución 4506 del 2013 [Internet]. 2013 [cited 2021 Mar 8]. Available from: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/DE/DIJ/resolucion-4506-de-2013.pdf>
- (33) Di Nardo F, Cavalera S, Baggiani C, Chiarello M, Pazzi M, Anfossi L. Enzyme Immunoassay for Measuring Aflatoxin B1 in Legal Cannabis. Toxins (Basel) [Internet]. 2020 Apr 20 [cited 2021 Apr 10];12(4):265. Available from: <https://www.mdpi.com/2072-6651/12/4/265>
- (34) EUR-Lex - 32010R0165 - ES - EUR-Lex [Internet]. [cited 2021 Apr 10]. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/?uri=CELEX%3A32010R0165&qid=1618102216289>
- (35) Martínez M, Vargas L, Gómez V. AFLATOXINAS: INCIDENCIA, IMPACTOS EN LA SALUD, CONTROL Y PREVENCIÓN [Internet]. 2013 [cited 2021 Apr 10]. Available from: <http://www.scielo.org.co/pdf/biosa/v12n2/v12n2a08.pdf>
- (36) MERCOSUR. REGLAMENTO TÉCNICO MERCOSUR SOBRE LÍMITES MÁXIMOS DE AFLATOXINAS ADMISIBLES EN LECHE, MANÍ Y MAÍZ (DEROGACIÓN DE LA RES. GMC No 56/94 [Internet]. [cited 2021 Apr 10]. Available from: [http://www.puntofocal.gov.ar/doc/r\\_gmc\\_25-02.pdf](http://www.puntofocal.gov.ar/doc/r_gmc_25-02.pdf)
- (37) Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Reglamentos a nivel mundial para las micotoxinas en los alimentos y en las raciones en el año 2003 [Internet]. 2003 [cited 2021 Mar 8]. Available from: <http://www.fao.org/3/y5499s/y5499s.pdf>
- (38) California code of regulations. BUREAU OF CANNABIS CONTROL TEXT OF REGULATIONS CALIFORNIA CODE OF REGULATIONS TITLE 16 DIVISION 42. BUREAU OF CANNABIS CONTROL ORDER OF ADOPTION [Internet]. [cited 2021 Apr 10]. Available from: [https://bcc.ca.gov/law\\_regs/cannabis\\_order\\_of\\_adoption.pdf](https://bcc.ca.gov/law_regs/cannabis_order_of_adoption.pdf)
- (39) Department of Agriculture Nevada. NAC: CHAPTER 453A - MEDICAL USE OF MARIJUANA [Internet]. [cited 2021 Apr 10]. Available from: <https://www.leg.state.nv.us/nac/nac-453a.html#NAC453ASec654>
- (40) Mcphail I V. DISOLVENTES RESIDUALES. 2014;1-9. Available from: [https://online.uspnf.com/uspnf/document/4\\_GUID-2DBF4188-861C-4B0E-B7DF-E3BEE82B0D9E\\_6\\_es-ES](https://online.uspnf.com/uspnf/document/4_GUID-2DBF4188-861C-4B0E-B7DF-E3BEE82B0D9E_6_es-ES)
- (41) Leyes desde 1992 - Vigencia expresa y control de constitucionalidad [LEY\_1787\_2016] [Internet]. [cited 2021 May 12]. Available from: [http://www.secretariasenado.gov.co/senado/basedoc/ley\\_1787\\_2016.html](http://www.secretariasenado.gov.co/senado/basedoc/ley_1787_2016.html)
- (42) 1. Constitución Política de la República de Colombia [Internet]. [cited 2021 May 29]. Available from: [http://www.secretariasenado.gov.co/senado/basedoc/constitucion\\_politica\\_1991.html](http://www.secretariasenado.gov.co/senado/basedoc/constitucion_politica_1991.html)
- (43) Acto Legislativo 2 de 2009 Congreso de la República - EVA - Función Pública [Internet]. [cited 2021 May 29]. Available from: <https://www.funcionpublica.gov.co/eva/gestornormativo/norma.php?i=38289>
- (44) secretaria del senado. LEY 599 DE 2000 [Internet]. [cited 2021 May 29]. Available from: [http://www.secretariasenado.gov.co/senado/basedoc/ley\\_0599\\_2000.html](http://www.secretariasenado.gov.co/senado/basedoc/ley_0599_2000.html)
- (45) Ministerio de salud y protección social. Decreto 780 del 2106 [Internet]. [cited 2021 May 29]. Available from: [https://www.minsalud.gov.co/Normatividad\\_Nuevo/Decreto%200780%20de%202016.pdf](https://www.minsalud.gov.co/Normatividad_Nuevo/Decreto%200780%20de%202016.pdf)
- (46) REPÚBLICA DE COLOMBIA.[Internet]. [cited 2021 May 29]. Available from: [https://www.minsalud.gov.co/Normatividad\\_Nuevo/Decreto 613 de 2017.pdf](https://www.minsalud.gov.co/Normatividad_Nuevo/Decreto 613 de 2017.pdf)
- (47) (No Title) [Internet]. [cited 2021 May 29]. Available from: <https://asocolcanna.org/wp-content/uploads/2019/08/Resolución-No.-02891-de-2017.pdf>
- (48) Ministerio de salud y protección social. Resolución número 002892 de 2017 [Internet]. [cited 2021 May 29]. Available from: [https://www.minsalud.gov.co/Normatividad\\_Nuevo/Resoluci%C3%B3n%20No.%2002892%20de%202017.pdf](https://www.minsalud.gov.co/Normatividad_Nuevo/Resoluci%C3%B3n%20No.%2002892%20de%202017.pdf)

- (49) Analítica Oficial M. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LOS ALIMENTOS MICROORGANISMOS INDICADORES.[Internet]. [cited 2021 May 29]. Available from: [http://www.anmat.gov.ar/renaloea/docs/analisis\\_microbiologico\\_de\\_los\\_alimentos\\_vol\\_iii.pdf](http://www.anmat.gov.ar/renaloea/docs/analisis_microbiologico_de_los_alimentos_vol_iii.pdf)
- (50) Farmacia Y Bioquímica E DE, Julia ZAMBRANO CHARCA Z, Roque Alcarraz M. UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA. 2017. [Internet]. [cited 2021 May 29]. Available from: <https://core.ac.uk/download/pdf/323341338.pdf>
- (51) DECRETO 2092 DE 1986 [Internet]. [cited 2021 May 29]. Available from: <http://suin-juriscol.gov.co/viewDocument.asp?id=1757738>
- (52) Elaboración de extracciones de marihuana (tipos y técnicas) [Internet]. [cited 2021 May 29]. Available from: <https://www.dinafem.org/es/blog/elaboracion-extracciones-marihuana-tipos-tecnicas/>
- (53) Procesos de extracción realizados en diferentes cultivos de cannabis terapéutico y función del proceso de descarboxilación en la obtención de respuestas óptimas de los receptores - Cannabeta [Internet]. [cited 2021 May 29]. Available from: <https://www.cannabeta.eu/es/2020/01/09/processi-estrattivi-condotti-su-diverse-cultivar-di-cannabis-terapeutica-e-ruolo-del-processo-di-decarbossilazione-per-lottenimento-di-risposte-recettoriali-ottimali/>
- (54) Farmacia DE, La EN, De P, Adquisición LA, Uso Y, Yalixa A, et al. REVISIÓN DOCUMENTAL SOBRE LA FALSIFICACIÓN DE MEDICAMENTOS Y EL ROL DEL TECNÓLOGO EN REGENCIA. 2018 [cited 2021 Aug 5]; Available from: <https://repositorio.unillanos.edu.co/bitstream/handle/001/1137/RUNILLANOS%20T-REF%200012%20REVISION%20DOCUMENTAL%20SOBRE%20LA%20FALSIFICACION%20DE%20MEDICAMENTOS%20Y%20EL%20ROL%20DE%20TECNOLOGO%20EN%20REGENCIA%20DE%20FARMACIA%20EN%20LA%20PREVENCION%20DE%20LA%20ADQUISICION%20Y%20USO.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- (55) Secretaria de salud. Alerta Sanitaria. Dir Medicam Y Prod Biológicos [Internet]. 2017;1:1–3. Available from: <https://www.invima.gov.co/>
- (56) ¿Cuáles son las sanciones que impone el Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos - Invima? [Internet]. [cited 2021 Aug 6]. Available from: <https://www.agtabogados.com/blog/cuales-son-las-sanciones-que-impone-el-instituto-nacional-de-vigilancia-de-medicamentos-y-alimentos-invima/>
- (57) María A, Navarro U, Mariño D, Diagramación L, Yenny :, Castiblanco García P. Protección al consumidor en Colombia. Una aproximación desde las competencias de la superintendencia de industria y comercio. 2017 [cited 2021 Aug 6]; Available from: [https://www.sic.gov.co/sites/default/files/files/Nuestra\\_Entidad/Publicaciones/Proteccion\\_al\\_Consumidor\\_en\\_Colombia\\_julio27\\_2017\(1\).pdf](https://www.sic.gov.co/sites/default/files/files/Nuestra_Entidad/Publicaciones/Proteccion_al_Consumidor_en_Colombia_julio27_2017(1).pdf)
- (58) Los riesgos de los productos fraudulentos derivados del cannabis | EL ESPECTADOR [Internet]. [cited 2021 Aug 6]. Available from: <https://www.elespectador.com/salud/los-riesgos-de-los-productos-fraudulentos-derivados-del-cannabis/>