

1
2 **Cuantificación de cannabinoides en dos formas farmacéuticas**
3 **mediante PLS-ATR-FTIR**

4 **Quantification of cannabinoids in two pharmaceutical dosage forms by**
5 **PLS-ATR-FTIR**

6 **Quantificação de canabinóides em duas formas de dosagem**
7 **farmacêutica por PLS-ATR-FTIR**

8 Angela Sofía Terán Enriquez¹, Leidy Carolina Gómez Vásquez², Sofía Posada Salazar³

9
10 ¹Universidad CES. Colombia - Medellín. Teran.angela@uces.edu.co.

11 ²Universidad CES. Colombia - Medellín. Gomezva.leidy@uces.edu.co.

12 ³Universidad CES. Colombia - Medellín. Posada.sofia@uces.edu.co.

13
14 **Resumen**

15 El THC principal componente psicoactivo del cannabis el cual se encuentra regulado bajo el decreto
16 227 de 2022 donde los productos derivados de cannabis deben tener una concentración menor al 0,2%
17 de THC en peso seco. El uso de productos derivados de Cannabis ha tomado popularidad en los últimos
18 años, lo cual ha aumentado así la necesidad de un método de análisis rápido para evaluar el contenido
19 de cannabinoides. La cromatografía de gases (GC) es el método analítico preferido para la
20 determinación de estos compuestos, aunque es una técnica lenta y costosa. La espectroscopia de
21 infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR) tiene el potencial para la predicción cuantitativa de
22 parámetros de calidad. El objetivo de la presente investigación fue desarrollar un método rápido,
23 económico, robusto y amigable con el medio ambiente basado en tecnología FTIR que permitiera la
24 detección de los principales cannabinoides en dos farmacéuticas una sólida tipo granulado y semisólida
25 tipo crema CBD, Δ^9 -THC, y CBN mediante el desarrollo de modelos de regresión de mínimos
26 cuadrados parciales (PLS) con buenos resultados predictivos similares. Este nuevo método analítico
27 permitiría una estimación más simple, robusta y precisa que la actual GC estándar.

28 **Palabras clave:** Cannabinoides; cuantificación; FTIR; control de calidad; espectros; regulación.

29
30 **Abstract**

31 THC, the main psychoactive component of cannabis, is regulated under decree 227 of 2022 where
32 cannabis products must have a concentration of less than 0.2% THC in dry weight. The use of
33 Cannabis-derived products has gained popularity in recent years, which has increased the need for a

1 rapid analytical method to evaluate the cannabinoid content. Gas chromatography (GC) is the preferred
2 analytical method for the determination of these compounds, although it is a slow and expensive
3 technique. Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) has the potential for quantitative prediction
4 of quality parameters. The objective of the present research was to develop a fast, inexpensive, robust,
5 and environmentally friendly method based on FTIR technology that would allow the detection of the
6 major cannabinoids in two pharmaceuticals a solid granule-type and semisolid cream-type CBD, Δ 9-
7 THC, and CBN by developing partial least squares (PLS) regression models with similar good
8 predictive results. This new analytical method would allow for simpler, more robust, and more accurate
9 estimation than the current standard GC.

10
11 **Keywords:** Cannabinoids; quantification; FTIT; quality control; spectra; regulation.

12 13 **Resumo**

14 O THC é o principal componente psicoactivo da canábis, regulamentado pelo decreto 227 de 2022,
15 onde os produtos derivados da canábis devem ter uma concentração inferior a 0,2% de THC numa
16 base de peso seco. O uso de produtos derivados do Cannabis ganhou popularidade nos últimos anos,
17 o que aumentou a necessidade de um método analítico rápido para avaliar o conteúdo de canabinóides.
18 A cromatografia gasosa (CG) é o método analítico preferido para a determinação destes compostos,
19 embora seja uma técnica lenta e dispendiosa. A espectroscopia de infravermelhos por transformação
20 de Fourier (FTIR) tem o potencial de previsão quantitativa de parâmetros de qualidade. O objectivo
21 da presente investigação era desenvolver um método rápido, barato, robusto e amigo do ambiente
22 baseado na tecnologia FTIR que permitisse a detecção dos principais canabinóides em dois fármacos,
23 um granular sólido e um semi-sólido tipo creme CBD, Δ 9-THC, e CBN através do desenvolvimento
24 de modelos de regressão de mínimos quadrados parciais (PLS) com bons resultados preditivos
25 semelhantes. Este novo método analítico permitiria uma estimativa mais simples, mais robusta e
26 precisa do que a actual CG padrão.

27
28 **Palavras-chave:** Canabinóides; quantificação; FTIT; controlo de qualidade; espectros; regulação.

29 **Introducción**

30 Cannabis Sativa es una planta de tamaño medio a alto, recta, de floración anual, originaria de Mongolia
31 y la zona sur de Siberia. Es una planta dioica, es decir, que hay plantas machos (polen) y plantas
32 hembras (óvulos). Originalmente se conocían dos subtipos de cannabis: Cannabis sativa (marihuana)

1 y Cannabis sativa L. (cáñamo); ambos se utilizaban en la Antigüedad por igual. Se han identificado
2 unos 554 compuestos en las plantas de Cannabis sativa sp., entre ellos 113 fitocannabinoides [1, p.2]
3 Actualmente, por las características físicas de la planta y por su efecto, se sugieren tres subespecies:
4 C. sativa sativa, C. sativa indica y C. ruderalis. La primera tiene altas cantidades de
5 tetrahidrocannabinol (THC), tiene efecto estimulante y se ha utilizado contra la depresión, la fatiga y
6 los trastornos del [2] ánimo en general. La segunda posee concentraciones equilibradas de THC y
7 cannabidiol (CBD), tiene efectos sedativos y relajantes y se ha usado contra la ansiedad, el insomnio,
8 el dolor y los espasmos musculares. La tercera es baja en THC y alta en CBD, un compuesto no
9 psicoactivo, por lo que se la ha considerado candidata para la producción de medicamentos sin los
10 efectos colaterales [3, 4].

11 Los cannabinoides son sustancias que suelen tener una estructura carbocíclica con 21 carbonos y están
12 formados generalmente por tres anillos, ciclohexeno, tetrahidrofurano y benceno [5], presentes en la
13 planta de cannabis actúan sobre receptores específicos en el cerebro y el cuerpo humano
14 (endocannabinoides). Los receptores endocannabinoides (ECB) fueron descubiertos en la última
15 década del siglo pasado. Se trata de los receptores ECB1 y ECB2. El primero mucho más abundante
16 en el sistema nervioso central (siendo el receptor acoplado a proteína G más abundante del cerebro), y
17 en menor medida en la periferia siendo su estimulación. El ECB2 predomina a nivel periférico y se
18 vincula al sistema inmunológico principalmente. La existencia de un sistema fisiológico que está
19 mediado por cannabinoides endógenos, cuyos receptores se encuentran distribuidos ampliamente en
20 el organismo, y que a nivel del sistema nervioso central son de los más ubicuos, destacan su
21 importancia y el impacto que pueden tener no solo como uso recreativo sino como resultado de
22 probable efecto terapéutico. Entre las funciones que modula el sistema cannabinoide se encuentran la
23 memoria, aprendizaje, atención, emociones, sistema de reforzamiento, ingesta de alimentos,
24 neuroprotección, actividad motora, dolor, así como su participación en los procesos de plasticidad
25 neuronal y neuromodulación a corto y largo plazo [6].

26 El Δ^9 -Tetrahidrocannabinol, comúnmente conocido como THC es el componente psicoactivo
27 (alteración de la percepción y modificación del estado de ánimo) de la planta de cannabis más
28 importante y abundante en las variedades clasificadas precisamente como psicoactivas [7]. El uso de
29 Cannabis en Colombia está regulado por la resolución 227 del 2022, este marco regulatorio legaliza
30 su uso para fines médicos y científicos y establece que derivados del cannabis como Aceites, resinas,
31 tinturas y extractos crudos deben tener una concentración no superior al 0,2% de THC en peso seco
32 [8].

1 Es importante una regulación en torno a los productos derivados del Cannabis para proteger la salud
2 pública; al hablar de salud pública se hace referencia a brindarle a la población productos seguros los
3 cuales no causen lesiones, enfermedades o daños en su bienestar tanto físico como mental [9]. Por
4 tanto, existe la obligatoriedad de fiscalizar todo producto que no cumpla la normativa exigida.

5 Debido a que la industria del Cannabis está en crecimiento al igual que el consumo en los últimos años
6 por parte de la población civil, cuantificar cannabinoides es de suma importancia, para garantizar
7 productos seguros a la población e igualmente para que la industria del Cannabis cumpla con
8 estándares de calidad y de seguridad.

9 Para cuantificar Cannabinoides se emplean diversos métodos, siendo el más utilizado la cromatografía.
10 Sin embargo, esta técnica es costosa y el tiempo de obtención de resultados puede ser tardío. Por esta
11 razón, la espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR) tiene características
12 sobresalientes en cuanto a costo y tiempo de resultados, lo que la convierte en una potente técnica para
13 la cuantificación. De esta forma el objetivo del presente artículo fue obtener un modelo quimiométrico
14 basado en FITR para la predicción cuantitativa de cannabinoides presentes en matrices sintéticas
15 farmacéuticas tipo sólido y semisólido, ofreciendo un método alternativo a la cromatografía como
16 herramienta de control y calidad de acuerdo a las regulaciones establecidas en torno a productos
17 derivados de esta planta.

18 **Materiales y métodos**

19 *Reactivos*

20 Se emplearon solventes grado analítico en todos los procedimientos.

- 21 - Cloroformo (Honeywell-Alemania)
- 22 - Etanol absoluto 70% (Honeywell -Francia)

23 *Extractos vegetales de cannabis*

24 Se emplearon dos tipos de extractos con diferentes concentraciones de cannabinoides.

- 25 - Extracto etanólico (procedencia confidencial) 72% CBD, 4,5% THC y 0,5% CBN
- 26 - Extracto por fluidos supercríticos (procedencia confidencial) 85% CBD

27 *Preparación de muestras.*

1 *Matriz farmacéutica tipo sólida.*

2 Para la elaboración de la matriz se preparó inicialmente un granulado vía húmeda, en la tabla 1 se
3 presenta su respectiva formulación cualicuantitativa. Luego este se llevó a distintos viales a los cuales
4 se les adiciono intencionalmente diferentes concentraciones de CBD, THC y CBN a partir de extractos
5 de cannabis etanólicos al 70%. A cada muestra se le adiciono 2 mL de etanol, se homogenizaron en
6 vórtex y las muestras se llevaron a secado, finalmente se realizó una última homogenización mediante
7 maceración, Se estudió un primer conjunto de 30 muestras.

8 **Tabla 1.** Formulación granulado matriz tipo sólido.

Forma farmacéutica	Materia prima	Cantidad Teórica(g)
Granulado	Celulosa Microcristalina 101	59,5
	Lactosa Monohidrato	11,9
	Croscarmelosa Sódica	5,25
	Povidona K30	5,25
	Dióxido de silicio coloidal	3,15
	Estearato de magnesio	5,25
	Agua tipo II	5,0
	Alcohol puro	5.0
Crema	Ácido esteárico	3,50 g
	Emulgade SE PF	14,01 g
	Alcohol cetílico	14,01 g
	Fenoxietanol	0,80 g
	Aceite de eucalipto 70 75%	4,00 g
	Extracto de coco	18,61 g
	Extracto de girasol	4,00 g
	Agua tipo II	125,07 g
	Glicerina	10,01 g
	Vitamina E	4,00 g

1 *Matriz farmacéutica tipo semisólido*

2 Se prepararon alrededor de 30 muestras usando una crema tipo placebo, su formulación se muestra en
3 la tabla 2. La cual se llevó a viales a los cuales se les adicionó intencionalmente diferentes
4 concentraciones de CBD, THC y CBN a partir de extractos de cannabis obtenidos por extracción con
5 CO₂ supercrítico. Se llevaron a baño maría aun rango de temperatura entre 70 y 80 °C y seguidamente
6 a vórtex para incorporar los componentes y lograr una adecuada homogenización.

7 *Análisis método primario*

8 Las muestras tanto de los extractos de cannabis como las muestras sintéticas fueron analizadas por
9 GC/FID. Se uso un cromatógrafo (marca Agilent Technologies, Inc. modelo 7890^a, China) acoplado a
10 un detector de ionización de llama y un inyector automático CTC PAL CombiPAL para inyección
11 líquida y de espacio de cabeza. Para el análisis de las muestras, se ejecutó un ejercicio de validación
12 del método analítico. Cuatro estándares analíticos fueron usados: Δ 9 -tetrahidrocannabinol (marca
13 USP), cannabidiol (marca LGC), cannabinol (marca Restek) y acetato de colesterol como estándar
14 interno (marca Toronto Research Chemicals). Para el procesamiento de los cromatogramas, se usó el
15 Software LabSolutions CS: SHIMADZU, manteniendo el cumplimiento del código FDA 21 CFR Parte
16 11 con respecto al manejo e integridad de los datos.

17 Para el análisis cromatográfico, se prepararon las muestras buscando que la concentración de los
18 cannabinoides estuviese en el rango lineal validado. Así, se prepararon las muestras en cloroformo
19 para lograr una concentración entre 10 – 300 μ g/mL de cannabidiol, entre 10 – 50 μ g/mL de Δ 9 -
20 tetrahidrocannabinol y entre 10 – 50 μ g/mL de cannabinol. Cada muestra fue analizada por triplicado.
21 Igualmente, se añadió acetato de colesterol como estándar interno en la dilución final a una
22 concentración de 50 μ g/mL. Una columna no polar de 30 m de longitud, 250 μ m de diámetro y 0,25
23 μ m de película, con una fase estacionaria de 95 % polidimetilsiloxano y 5 % fenil fue usada (marca
24 Phenomenex Zebron-5MS). Se usó helio como gas de arrastre, con una velocidad lineal de flujo de 35
25 cm/s, un volumen de inyección de 1 μ L, una temperatura de inyector de 240 °C y una temperatura del
26 detector de 260 °C

27 *Medidas Espectroscópicas*

28 Todas las medidas espectrales fueron tomadas en un espectrofotómetro de infrarrojo medio con transformada
29 de Fourier (FTIR) (Thermo Scientific Nicolet TM iS50, USA) equipado con un accesorio de reflexión total
30 atenuada (ATR) y un cristal de diamante de haz sencillo. El equipo fue purgado con nitrógeno antes de su uso.

1 Los espectros fueron tomados con 32 escaneos por réplica, con una resolución de 4 cm^{-1} usando el Software
2 OMNIC 9.2.106 de Thermo Scientific. Con el fin de minimizar la influencia del ruido, cada espectro se tomó
3 contra una medida de blanco (background) ejecutado antes de cada medición. A todas las muestras en estudio
4 se les realizó la medición en el infrarrojo medio, cada una por triplicado.

5 Las muestras de extracto de cannabis fueron analizadas directamente. Así mismo, el granulado y la
6 crema sintética a base de cannabis fueron analizadas directamente en el accesorio ATR, con un gasto
7 de alrededor de 5 – 10 mg por obtención de la medición. Entre cada medición, se usó isopropanol para
8 limpiar el lente de diamante.

9 *Análisis estadístico.*

10 Se elaboró dos modelos de calibrado multivariante por Regresión de Mínimos Cuadrados Parciales
11 (PLS) mediante el software TQ Analyst, que hace uso de la información espectral y la concentración
12 en porcentaje peso/peso de cada uno de los cannabinoides [9]. Para comenzar, el modelo PLS hace un
13 Análisis de Componentes Principales (PCA) con el fin de reducir la serie de datos a factores, para
14 luego generar combinaciones lineales de las variables y así, dar lugar al modelo de regresión. Luego,
15 se seleccionó el número de factores y se detectaron los espectros discrepantes o outliers. El modelo
16 desarrollado se evaluó en función de la raíz del error medio cuadrado de la calibración (RMSEC). Se
17 evalúa asimismo la raíz del error medio cuadrado de la predicción (RMSEP) que se calculó a partir de
18 la predicción de los resultados de las muestras de validación siendo estas las muestras que no se
19 utilizaron en la construcción del modelo de calibración [15] y la raíz del error medio cuadrado de la
20 validación cruzada (RMSECV) de un conjunto de espectros. Se considera igualmente el coeficiente de
21 determinación entre los resultados obtenidos en la calibración, predicción y validación cruzada [9].
22 Cada modelo de calibración fue optimizado, buscando obtener un mayor coeficiente de determinación
23 (R^2 , entre la concentración real y la predicción) y menores errores cuadráticos medios de la calibración,
24 la predicción y la validación cruzada. Es importante mencionar que, al ser los modelos de calibración
25 de carácter predictivo para la concentración de cannabinoides en diferentes matrices, se consideró
26 preferible un menor error cuadrático medio para la predicción y la validación cruzada que para la
27 calibración.

28 **Resultados y discusión**

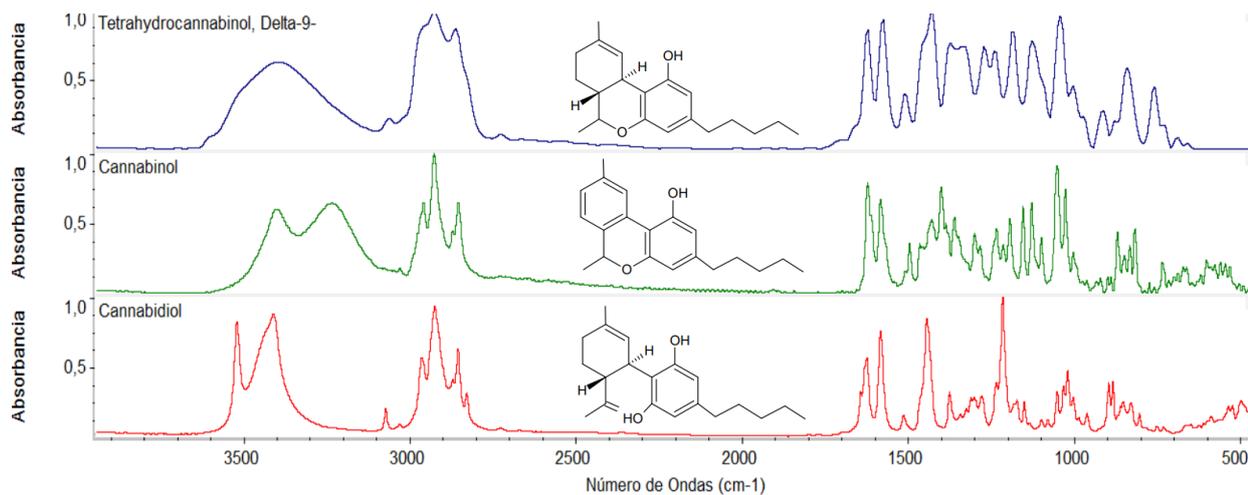
29 *Interpretación espectral*

1 Para la construcción del modelo de calibración PLS se eligió varias regiones del espectro, de esta
2 manera su interpretación fue decisiva. Estructuralmente, los tres cannabinoides evaluados son
3 similares, muestran una estructura carbocíclica con 21 átomos de carbono y suelen estar formados por
4 tres anillos: ciclohexeno, tetrahidropirano y benceno. Los cannabinoides contienen hidrocarburos
5 aromáticos oxigenados y no contienen nitrógeno [11]. Se puede observar los espectros de los tres
6 componentes del modelo de calibración en la figura 1.

7 Las tres estructuras presentan una banda de vibración de tensión entre 3500 y 3400 cm^{-1} por los grupos
8 OH, y una banda de tensión entre 1260 y 1150 cm^{-1} perteneciente a un C-O. Así mismo, se deben
9 observar las tensiones tanto de la cadena alifática de los cannabinoides sobre los 2900 cm^{-1} y muy
10 cerca de los 3000 cm^{-1} tensiones de ciclos aromáticos. Se observó en el espectro igualmente, entre
11 1650 y 1440 cm^{-1} , las bandas de las tensiones de aromáticos, así como doble tensión del enlace debido
12 al ciclohexeno del CBD y del Δ^9 -THC. De la misma forma, se observaron las vibraciones intensas de
13 deformación por fuera del plano, entre 1000 y 650 cm^{-1} del enlace entre carbonos aromáticos, también
14 como la deformación del doble enlace del ciclohexeno en el CBD y el Δ^9 -THC. Debido al ciclo de
15 tetrahidropirano en el Δ^9 -THC y el CBN presentaron dos bandas del grupo éter, una tensión asimétrica
16 a una frecuencia de 1100 cm^{-1} , y una tensión simétrica a una frecuencia de 815 cm^{-1} . Al igual que todas
17 las estructuras orgánicas, la contribución de las vibraciones deformación de los metilos y metilenos
18 generaron diferentes bandas entre 1400 y 1300 cm^{-1} , que contribuyeron a la huella dactilar del espectro
19 infrarrojo.

20 Los extractos evaluados no corresponden con una pureza del 100 % de cannabinoides, presentan otros
21 compuestos extraíbles de la planta del cannabis sativa, como ceras, clorofila, terpenos, flavonoides,
22 que son desechados a medida que se enriquece en cannabinoides el extracto hasta obtener un aislado.
23 Aunque los métodos de extracción se optimizaron para extraer selectivamente los cannabinoides a
24 partir del material vegetal, la extracción no fue enteramente selectiva.

25 La elección de la región espectral para la construcción del modelo se definió por el Software OMNIC
26 9.2.106 de Thermo Scientific, mediante un diagnóstico espectral estadístico. Así, el software usó la
27 información espectral y la concentración, y luego generó un espectro denominado media espectral, que
28 indica las características dominantes que están presentes en todos los espectros de estándar.



1

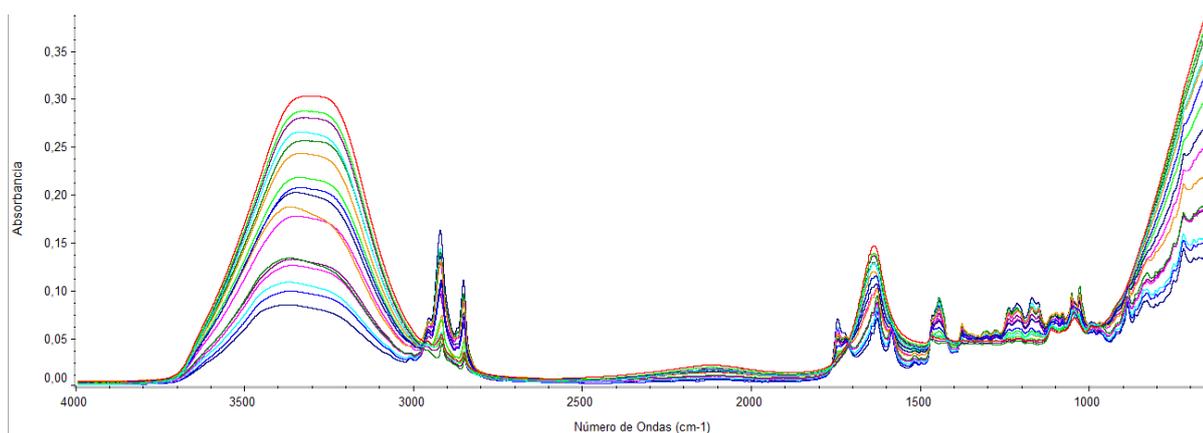
2

Figura 1. Espectro IR-medio para los tres componentes (Δ^9 -THC, CBN y CBD, respectivamente).

3 **Modelo de calibración multivariante**

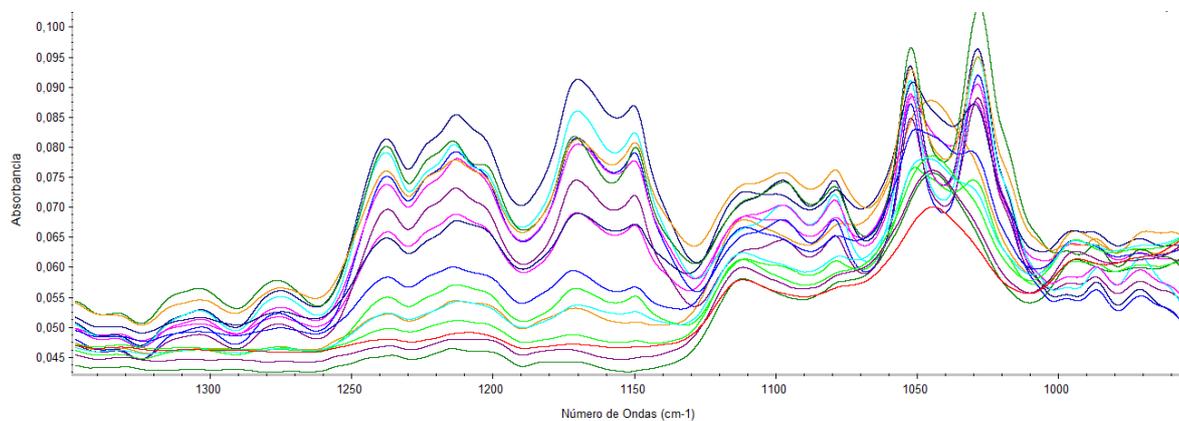
4 Modelo de calibración de la crema cargada con extracto de cannabis obtenido con CO₂ supercrítico.
 5 Con el fin de predecir la concentración de CBD, THC y CBN en muestras de extractos de cannabis
 6 obtenido por extracción con CO₂ fue desarrollado y optimizado un modelo de calibración multivariante
 7 por PLS usando los espectros obtenidos por FTIR/ATR. El modelo de calibración desarrollado
 8 contempla muestras cuya concentración de cannabidiol está entre 4,96 y 10,18 % p/p. Para construir
 9 el modelo, las muestras fueron posteriormente analizadas por GC/FID para conocer la concentración
 10 de los cannabinoides.

11



12 **Figura 2.** Espectros obtenidos por FTIR/ATR para las cremas cargadas con extractos de cannabis
 13 obtenidos por extracto CO₂ Supercrítico en el rango entre 4000 – 650 cm⁻¹.

1 La figura 2 corresponde a la representación gráfica de los espectros obtenidos mediante FTIR/ATR,
2 los espectros se mantienen constantes, cada una de líneas corresponde a un triplicado de cada muestra,
3 y efecto de la concentración de los analitos es diferencial.



10 **Figura 3.** Espectros obtenidos por FTIR/ATR para las cremas cargadas con extractos de cannabis
11 obtenidos por extracto CO₂ Supercrítico en el rango entre 948 – 4000 cm⁻¹.

12 El espectro observado para la crema cargada con extracto CO₂ supercrítico en la figura 3 es similar al
13 espectro obtenido para CBD aislado en la figura 1. Sin embargo, los espectros no se solapan debido a
14 las diferentes concentraciones de CBD presentes en cada muestra, de igual manera se pudieron detectar
15 otras moléculas en la matriz debido a que la extracción de metabolitos no es un proceso enteramente
16 selectivo de tal forma que logre solo la extracción de la molécula de interés. La figura 2 corresponde
17 a los espectros en la región sugerida por el software OMNIC la cual se encuentra dentro de la huella
18 dactilar del espectro infrarrojo.

19 Para el desarrollo del análisis multivariante se tomó la totalidad del espectro (entre 4000-925cm⁻¹),
20 luego se tomaron diferentes regiones del espectro total sin ningún tipo de tratamiento, con el objetivo
21 de mejorar los coeficientes de determinación se realizó un pretratamiento del espectro para la
22 construcción del modelo, Por esta razón se aplicó primera y segunda derivada del espectro, filtro
23 Savitzky-Golay, filtro de Norris y corrección de línea base. Se evidenció que al aplicar una primera
24 derivada se logró un mejor resultado para R²_{CV} y RMSECV. La elección del modelo obedece a un
25 R²_{CV} cercano a 1 y a un menor RMSECV (ver tabla 1). La muestra evaluada en un rango entre 958 y
26 1351 a la cual se le hizo como pretratamiento primera derivada, presentó el mejor R² (0,5801) en
27 cuanto a validación cruzada y un menor RMSECV de 1,410 lo que quiere decir que fue el modelo con
28 un mejor desempeño de carácter predictivo del método.

1 **Tabla 2.** Modelo de calibración escogido para el CBD contenido en la forma farmacéutica semisólida
 2 con extracto CO₂ Supercritico.

Componente	No. Modelo	Tratamiento espectral	Región espectral (cm ⁻¹)	F	RMSEC (%)	R ² Cal	RMSEP (%)	R ² Pred	RMSECV (%)	R ² CV
CBD	1	SN	1350-978	3	1,140	0,7027	0,825	0,7030	1,590	0,5003
	2	SN	4000-653	2	1,370	0,5231	1,370	0,2161	1,670	0,3878
	3	SN	4000-925	2	1,410	0,4846	1,410	0,1711	1,700	0,3925
	4	SN	4000-2731	2	1,420	0,4666	1,430	0,1615	2,060	0,3706
	5	SN	1866-948	3	1,190	0,6755	1,060	0,5771	1,470	0,4918
	6	SN	2993-2731	2	1,360	0,5362	1,410	0,2850	1,700	0,4300
	7	SN	3724-2983	4	1,300	0,5920	1,110	0,4583	2,830	0,1455
	8	1D	4000-948	3	1,130	0,7091	1,120	0,4675	2,050	0,2130
	9	<u>1D</u>	<u>1351-958</u>	<u>2</u>	<u>1,130</u>	<u>0,6948</u>	<u>0,627</u>	<u>0,8215</u>	<u>1,410</u>	<u>0,5801</u>
	10	1D	4000-659	3	1,110	0,7224	1,150	0,4608	2,080	0,2242
	11	1D	4000-931	3	1,130	0,7093	1,120	0,4678	2,050	0,2125
	12	1D	4000-2731	1	1,580	0,1989	1,250	0,6237	3,030	0,1251
	13	2D	1350-980	2	1,170	0,6838	0,749	0,8293	1,580	0,5177
	14	2D	4000-653	3	1,090	0,7377	1,760	0,1731	2,230	0,1847
	15	2D	4000-925	3	1,170	0,6864	1,820	1,1804	2,310	0,1488
	16	2D	4000-2731	1	1,560	0,2446	1,280	0,5627	2,760	0,1087
	17	2D	1866-948	3	1,190	0,6724	1,270	0,5759	1,510	0,4997
	18	2D	2993-2731	1	1,560	0,2301	1,270	0,5706	3,040	0,1122
	19	2D	3724-2983	2	1,250	0,6255	1,730	0,2998	2,070	0,1790
	20	SN + SV	1350-978	3	1,140	0,7023	0,805	0,7119	1,890	0,4528
	21	SN + SV	4000-925	6	0,9730	0,7962	1,120	0,6475	2,280	0,4170
	22	SN + SV	1866-948	3	1,190	0,6754	1,060	0,5770	1,680	0,4535
	23	SN + SV	2993-2731	2	1,360	0,5362	1,410	0,2850	1,920	0,3399
	24	1D+ SV	1351-958	3	1,140	0,7022	0,795	0,7225	1,910	0,4496
	25	2D+ SV	1350-980	3	1,140	0,7024	0,812	0,7081	1,880	0,4500
	26	2D +SV	1866-948	3	1,190	0,6724	1,270	0,5759	1,510	0,4997
	27	1D+SV +LB	1351-958	2	1,170	0,6854	0,729	0,8248	1,710	0,4856

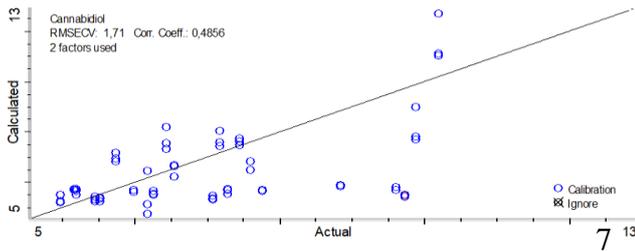
Notas: F (factores), SV (Suavizado con el filtro de Savitzky-Golay con una ventana de 7 puntos y polinomio de orden 3), LB (Corrección de línea base).

3

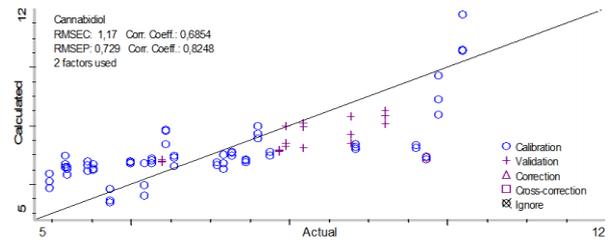
4 La figura 3 recoge la representación del modelo de calibración para el CBD para la forma farmacéutica
 5 semisólida según las concentraciones halladas por el método de referencia (GC/FID) en comparación
 6 con el valor predicho por el modelo PLS construido por FTIR/ATR.

1 La elección del modelo se escogió en base a la muestra que arrojó una mejor capacidad predictiva. El
2 error en la predicción para el CBD resulta ser 0,729 % el error en la calibración fue de 1,170%, el error
3 en la validación fue de 1,710%. Errores pequeños para muestras cuya concentración varía entre 4,9625
4 y 10,1847 % p/p. Se obtuvo un R^2 igual a 0,5801. Esto quiere decir que el modelo desarrollado cuenta
5 con una capacidad predictiva adecuada.

6



8 **Figura 4A.** Modelo de predicción.



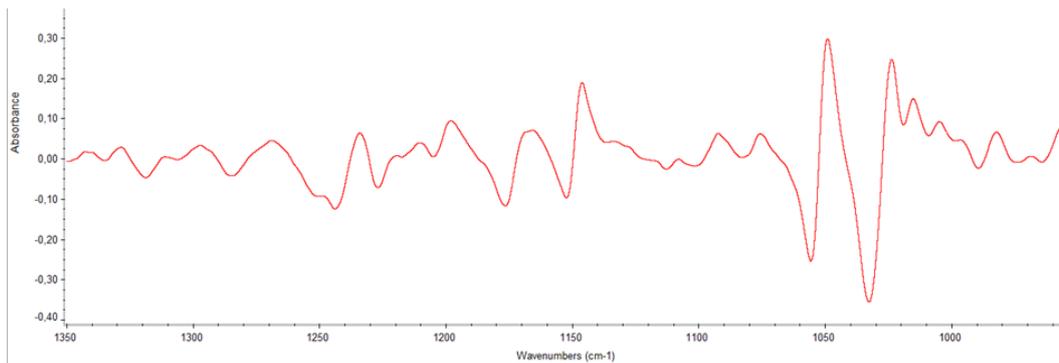
9 **Figura 4B.** Modelo de la validación cruzada.

9 A partir del modelo desarrollado para la predicción de la concentración de cannabinoides en extracto
10 de cannabis obtenido por extracción con CO_2 supercrítico, se obtuvo el coeficiente de regresión para
11 cada componente modelado. Este coeficiente de regresión explica algunas variables que deben tener
12 similitud al espectro de los componentes. El coeficiente de regresión para el CBD se refleja en la figura
13 5. Igualmente, la figura 6 corresponde con el espectro del CBD modelado. Se evidencia entonces que
14 algunas variables de los coeficientes de regresión corresponden con los espectros de los cannabinoides.

15 Al evaluar ambas figuras, es posible reconocer algunas señales que el modelo usa para la correlación
16 con la concentración de los cannabinoides. Por ejemplo, para el CBD, entre $1350\text{-}1300\text{cm}^{-1}$ flexión C-
17 H, entre $1219\text{-}1220\text{ cm}^{-1}$ de forma muy marcada una tensión C-OH, entre 1150 cm^{-1} tensión C-O,
18 cerca de los 1020 otra tensión C-OH y debajo de los 1000 cm^{-1} flexiones de los aromáticos y alquenos.

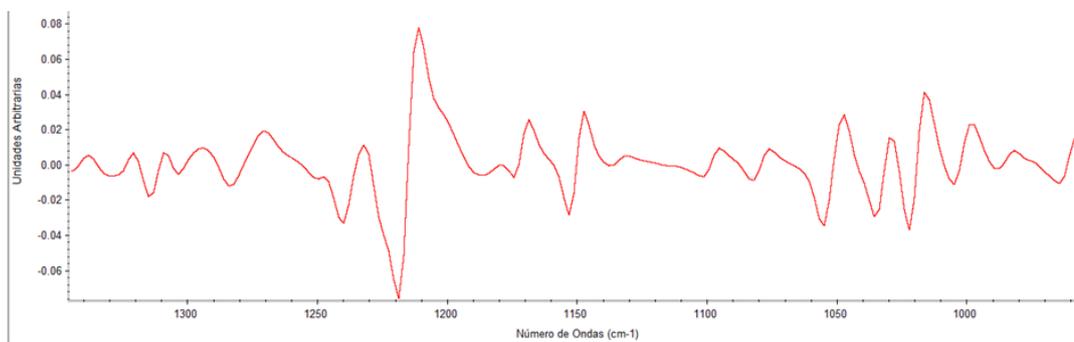
19 El rango de calibración desarrollado para la crema a base de extracto de cannabis obtenido con CO_2
20 supercrítico permite la predicción del CBD en un amplio rango de concentraciones. Las matrices
21 farmacéuticas semisólidas suelen ser complejas, pues constan de una fase oleosa y una fase acuosa,
22 con un amplio uso de excipientes. No obstante, se ha verificado que el análisis multivariante, mediante
23 la calibración con mínimos cuadrados parciales, permite el tratamiento de los espectros infrarrojos y
24 logra la selectividad analítica, algo que sin el uso de la quimiometría sería realmente complejo.

25



1

2 **Figura 5.** Coeficiente de regresión del CBD obtenido de la crema cargada con extracto de cannabis
 3 obtenido con CO₂ supercrítico



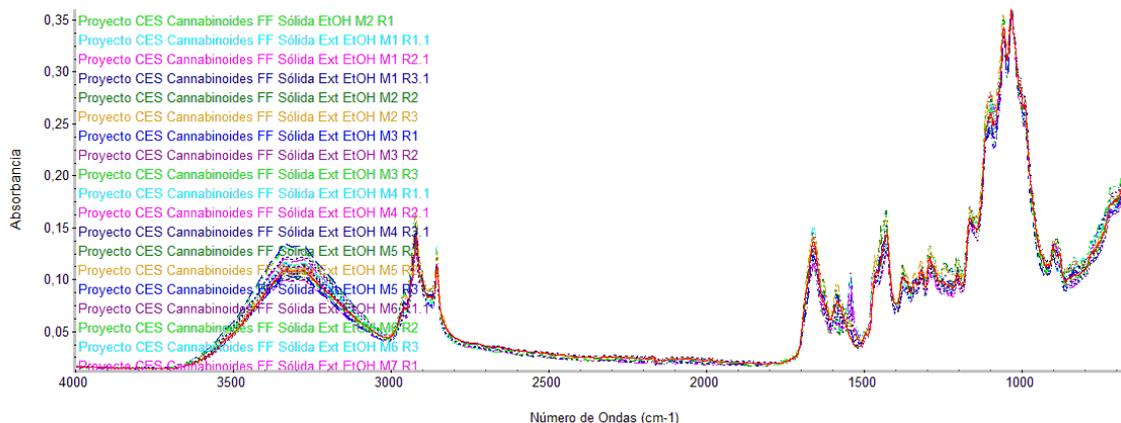
4

5 **Figura 6.** Espectro de referencia de CBD, aplicando la primera derivada.

6 ***Matriz farmacéutica sólida – granulado***

7 ***Modelo de calibración multivariante***

8 Con el fin de predecir la concentración de CBD, THC y CBN en muestras de extractos de cannabis
 9 obtenido por extracto etanólico fue desarrollado y optimizado un modelo de calibración multivariante
 10 por PLS usando los espectros obtenidos por FTIR/ATR. El modelo de calibración desarrollado
 11 contempla muestras cuya concentración de cannabidiol está entre 2,00 y 15,00 % p/p, y
 12 Δ^9 -tetrahydrocannabinol entre 0,1 y 0,65 % p/p, Para la construcción del modelo, el conjunto de
 13 muestras fue analizado por GC/FID y se determinó la concentración de los cannabinoides. La figura 6
 14 representa los espectros por triplicado de la forma farmacéutica sólida.



1

2 **Figura 6.** Espectros obtenidos por FTIR/ATR para el granulado cargadas con extracto en el rango
 3 entre 650 – 4000 cm⁻¹.

4 Para el modelo multivariante de la forma farmacéutica solida se tomó la totalidad del espectro (entre
 5 4000-650cm⁻¹) se aplicó primera y segunda derivada del espectro, filtro Savitzky-Golay, filtro de
 6 Norris y corrección línea base. Al aplicar segunda derivada se obtuvo mejores resultados, se logró un
 7 mejor resultado para R²_{CV} y RMSECV. La muestra evaluada en un rango entre 821 y 1742 cm⁻¹
 8 presentó mejor R² (0,9515) en cuanto a validación cruzada y un menor RMSECV de 0,0466% para el
 9 THC; para el modelo de CBD la muestra evaluada en un rango entre 821 y 1742 cm⁻¹ igualmente con
 10 segunda derivada presento mayor R² (0,9502) un menor RMSECV de 1,73 lo que quiere decir que se
 11 tuvo un mejor desempeño del carácter predictivo del método y el modelo es idóneo para la
 12 cuantificación de THC y CBD en muestras desconocidas.

13 **Tabla 3.** Modelo de calibración escogido para el CBD contenido en el granulado cargado con extracto
 14 de cannabis etanólico.

Compo nente	No. Model o	Tratamie nto espectral	Región espectral (cm ⁻¹)	F	RMSE C (%)	R ² _{Cal}	RMSE P (%)	R ² _{Pred}	RMSEC V (%)	R ² _{CV}
CBD	1	SN	4000-650	4	0.594	0.986	1.21	0.977	0.881	0.973
	2	SN	1475-821	4	0.611	0.985	0.851	0.983	0.959	0.968
	3	SN	1742-821	4	0.586	0.986	0.850	0.983	0.845	0.981
	4	1D	1742-821	7	0.369	0.994	0.857	0.990	1.88	0.948
	5	2D	1742-821	10	0.212	0.998	0.533	0.981	1.73	0.950
	6	1D	4000-650	7	0.348	0.995	0.881	0.989	1.82	0.945
	7	1D	1475-821	7	0.409	0.993	0.749	0.982	1.98	0.942
	8	2D + SV	1742-821	10	0.213	0.998	0.616	0.975	1.75	0.949

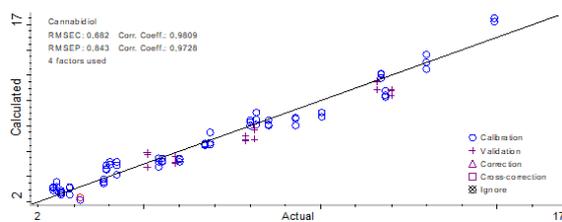
	9	2D + LB	1742-821	7	0.355	0.995	0.705	0.984	1.92	0.946
						1		7		1
Δ⁹-THC	1	SN	4000-650	4	0.0165	0.9878	0.0433	0.9335	0.0255	0.9717
	2	SN	1475-821	3	0.0183	0.9850	0.0315	0.9736	0.0202	0.9818
	3	SN	1742-821	3	0.0170	0.9870	0.0238	0.9862	0.0206	0.9821
	4	1D	1742-821	7	0.0101	0.9955	0.0204	0.9930	0.0512	0.9511
	5	2D	1742-821	8	0.00798	0.9971	0.0110	0.9903	0.0466	0.9515
	6	1D	4000-650	7	0.00924	0.9962	0.0212	0.9919	0.0546	0.9450
	7	1D	1475-821	7	0.0104	0.9952	0.0189	0.9739	0.0574	0.9445
	8	2D + SV	1742-821	9	0.00693	0.9978	0.0139	0.9838	0.0496	0.9506
	9	2D + LB	1742-821	7	0.00954	0.9959	0.0134	0.9867	0.0529	0.9500

Notas: F (factores), SV (Suavizado con el filtro de Savitzky-Golay con una ventana de 13 puntos y polinomio de orden 2), LB (Corrección de línea base). SN (sin tratamiento), 1D (1ra derivada), 2D (2da derivada)

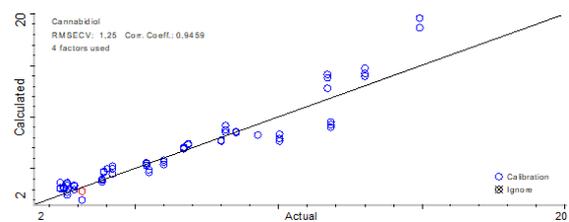
1

2 La figura 7A y 7B recogen la representación del modelo de calibración para el CBD según las
3 concentraciones halladas por el método de referencia (GC/FID) comparado el valor predicho por el
4 modelo PLS construido por FTIR/ATR. Los errores para la predicción y la validación cruzada fueron
5 respectivamente 0,843 y 1,250%, errores pequeños para el rango de concentración evaluado que fue
6 de 2-15 % CBD p/p. El coeficiente de correlación fue bueno indicando que gran parte de los datos de
7 la variable dependiente son explicados por la variable independiente, es decir, entre los valores
8 hallados por GC/FID, y la predicha por el modelo de calibración PLS por FTIR/ATR.

9



10



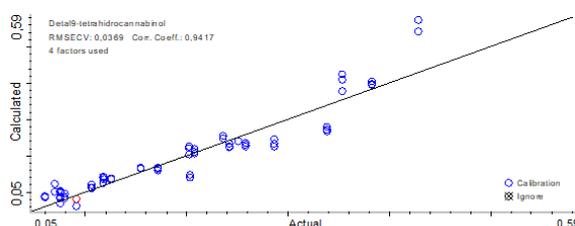
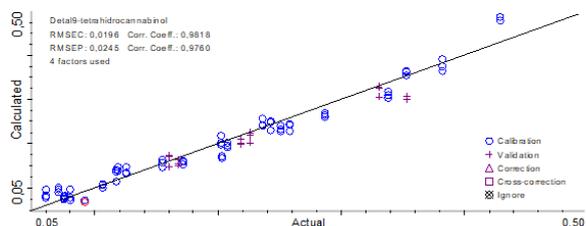
11 **Figura 7A.** Modelo de predicción.

Figura 7B. Modelo de la validación cruzada.

12 **Figura 7.** Representación del modelo de calibración para el CBD, según las concentraciones halladas
13 por el método de referencia (GC/FID) en comparación con los valores predichos por el modelo PLS
14 construido por FTIR/ATR, en extracto etanólico.

15 Podemos encontrar la predicción (izquierda) y la validación cruzada (derecha) para el Δ⁹-THC en la
16 forma farmacéutica sólida. El RMSEC y RMSEP son 0,0196 % y 0,0245 % respectivamente, valores

1 pequeños para el rango de concentración evaluado para el THC 0,1- 0,65 % p/p. Se considera así que
2 el modelo tiene un buen carácter predictivo de la concentración de THC en muestras desconocidas.



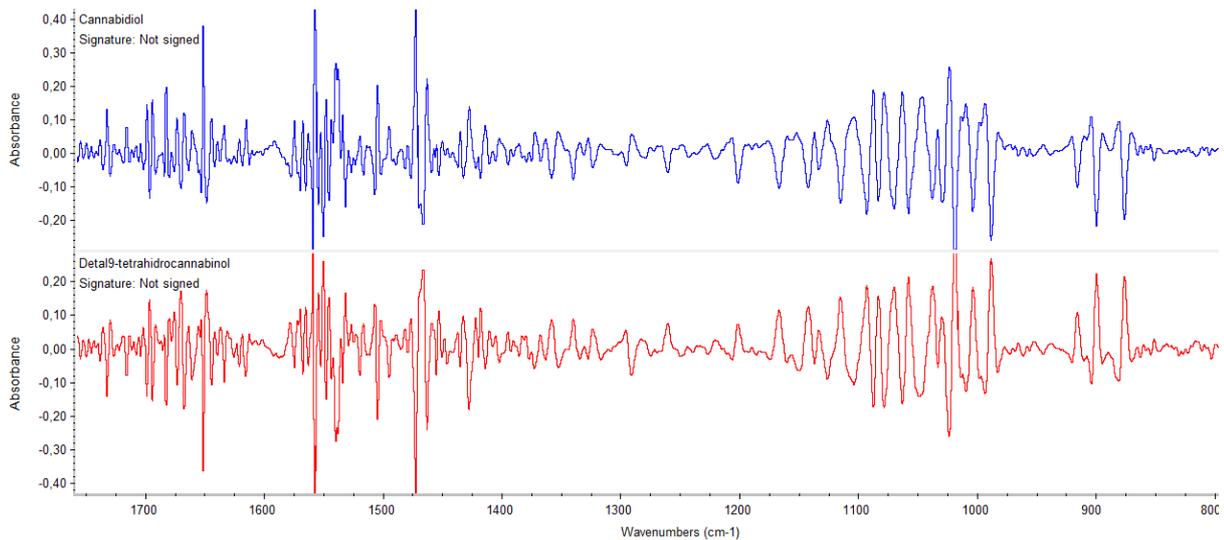
3
4 **Figura 8A.** Modelo de predicción.

Figura 8B. Modelo de la validación cruzada.

5 **Figura 8.** Representación del modelo de calibración para el THC, según las concentraciones halladas
6 por el método de referencia (GC/FID) versus el valor predicho por el modelo PLS construido por
7 FTIR/ATR, en extracto etanólico.

8 Se obtuvo el coeficiente de regresión para cada uno de los componentes que fueron modelados. Estos
9 coeficientes de regresión explican algunas variables que deben tener similitud al espectro de los
10 componentes. Los coeficientes de regresión para el CBD y THC se reflejan en la figura 9; igualmente,
11 la figura 10 y 11 corresponde respectivamente con los espectros del CBD y THC modelados. Se
12 evidenció que algunas bandas de los coeficientes de regresión corresponden con los espectros de los
13 cannabinoides.

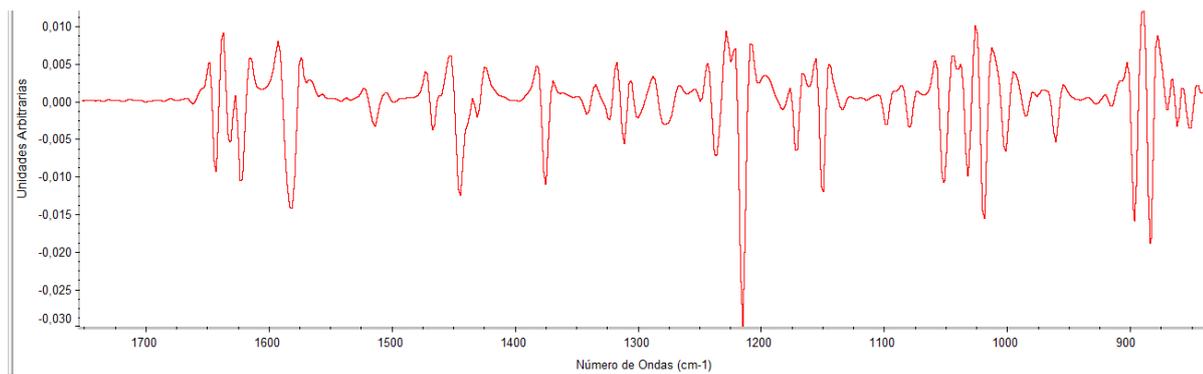
14 En la parte superior se observa el coeficiente de regresión para el CBD y en la inferior el coeficiente
15 de regresión para el THC, se observa que algunas de las señales que el modelo usó para la correlación
16 fueron para el CBD una tensión C-O en la región 1650cm^{-1} y flexiones por debajo de la región 1000cm^{-1}
17 la cual corresponde a aromáticos o alquenos. En el THC se una banda de tensión entre $1300\text{-}1050\text{cm}^{-1}$
18 1 del grupo hidroxilo o éter. Las bandas características que usó el FTIR para identificar el THC 1509-
19 1425 cm^{-1} debido a flexiones C-H. En ambos cannabinoides una región comprendida entre $1600\text{-}1400$
20 cm^{-1} una banda de tensión de carbonos aromáticos y presentaron una banda vibratoria cerca de 1600
21 cm^{-1} debido a la similitud en cuanto a la estructura química del THC y el CBD. Sin embargo, la
22 mayoría de los picos presentan cambios espectrales muy similares, pero con diferencias sustanciales
23 desde un análisis más preciso [11].



1

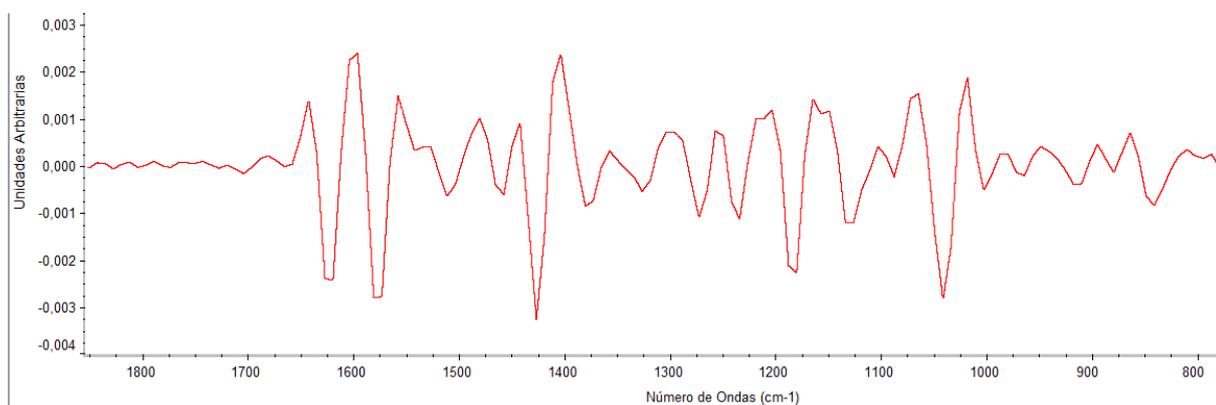
2 **Figura 9.** Coeficientes de regresión para el CBD y THC en forma farmacéutica sólida

3



4

5 **Figura 10.** Espectro de referencia del CBD aplicando la segunda derivada.



6

7 **Figura 11.** Espectro de referencia del THC aplicando la segunda derivada.

8 El modelo desarrollado contempla un rango dinámico de concentración entre 0,1 % y 0,65 % para el
 9 THC. Es decir, el modelo predice la concentración de THC, y puede incluso detectar una muestra cuya
 10 concentración del componente psicoactivo supere el límite legal establecido en Colombia. La facilidad

1 para operar del método, el bajo costo y consumo de tiempo empleado para la medición y la necesidad
2 de realizar una vigilancia a los productos con Δ^9 -tetrahidrocannabinol resulta sin duda una alternativa
3 para el ente de inspección, los laboratorios de control de calidad y fabricantes. Se ha demostrado que
4 un método por FTIR/ATR, validado frente a un GC/FID puede ser desarrollado, y empleado para el
5 control y predicción de la concentración de los cannabinoides, o bien la psicoactividad de un producto
6 terminado tipo granulado.

7 **Conclusiones**

8 Se desarrollaron dos modelos quimiométricos para dos formas farmacéuticas, un tipo sólido cargado
9 con extracto etanólico y otra tipo semisólida con CO₂ supercrítico, ambos modelos con una capacidad
10 predictiva adecuada, el modelo elaborado para la forma farmacéutica semisólida permitió la detección
11 de CBD en un amplio rango de concentraciones. En el granulado se logró modelar dos cannabinoides,
12 el CBD y THC, los modelos se consideran idóneos, no presentaron sobreajuste lo que los hace modelos
13 reproducibles en matrices farmacéuticas parecidas. Los modelos son exactos debido a los resultados
14 dados en la validación cruzada donde se muestra una buena correlación entre los valores del método
15 primario que fue cromatografía de gases y el método predictivo PLS construido mediante FTIR/ATR.
16 Para la forma sólida se logró detectar THC en concentraciones mayores a las permitidas por el decreto
17 227 de 2022 de esta forma el modelo permite diferenciar una muestra con características psicoactivas.

18

19 **Referencias**

20 [1] Daniela Sedan *et al.*, «Caracterización del contenido de cannabinoides en inflorescencias y preparaciones
21 herbarias artesanales de cannabis, utilizados terapéuticamente en Argentina». *Phytotherapy Research*, 2020

22

23 [2] ANGANGELES LOPEZ, Guadalupe Esther; BRINDIS, Fernando; CRISTIANS NIIZAWA, Sol
24 y VENTURA MARTINEZLES LOPEZ, «Cannabis sativa L., una planta singular.», *Rev. mex. cienc.*
25 *farm [online]*, vol. 45, n.º 4, pp. 1-6, 2014.

26

27

28 [3] Néstor M, FLORIAN R, Fabián PARADA A., y William F. GARZÓN M, «ESTUDIO DEL CONTENIDO
29 DE CANNABINOIDES EN MUESTRAS DE MARIHUANA (Cannabis sativa L.) CULTIVADAS EN
30 VARIAS REGIONES DE COLOMBIA». *VITAE*, 21 de mayo de 2009. Accedido: 15 de septiembre de 2022.

31 [En línea]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/vitae/v16n2/v16n2a08.pdf>

32

- 1 [4] D. G. Tamosiunas, «Una introducción al perfil farmacológico y terapéutico de la marihuana», *Arch Med*
2 *Interna*, p. 4.
3
- 4 [5] Angel Arévalo-Martín *et al.*, «Guía Básica sobre los Cannabinoides». Sociedad Española de Investigación
5 sobre Cannabinoides (SEIC), 2002.
6
- 7 [6] D. G. Tamosiunas, «Una introducción al perfil farmacológico y terapéutico de la marihuana», *Arch Med*
8 *Interna*, p. 4.
9
- 10 [7] Brenda Elizabeth Silva Peñuelas y Lizet Valeria Romero Quintana, «Detección de tetrahidrocannabinol en
11 el cabello». Revista CLEU, 2019.
12
- 13 [8] Colombia, «[resolucion-227-de-2022.pdf](#)». 2022.
14
- 15 [9] OPS y ONU, «LAS FUNCIONES ESENCIALES DE LA SALUD PÚBLICA EN LAS AMÉRICAS». 2020.
16
- 17 [10] T. F. Scientific, «TQ Analyst Software User Guide»,
- 18 [11] Barrales-Cureño, H.J. et al. (2020) Chemical Characteristics, therapeutic uses, and legal aspects of the
19 cannabinoids of Cannabis Sativa: A Review, Brazilian Archives of Biology and Technology. Instituto de
20 Tecnologia do Paraná - Tecpar. Available at:
21 <https://www.scielo.br/j/babt/a/vshCZMZdHpQRhMYwQ8WwVWq/?lang=en> (Accessed: November 18,
22 2022).
23