

VALIDACIÓN DE IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE CANABINOIDES EN SOLUCIONES Y ACEITES POR HPLC

Laboratorio Físicoquímico de Productos Farmacéuticos y Otras Tecnologías

Cannabis Sativa

Imágenes tomadas de: <https://www.google.com.co>



GOBIERNO
DE COLOMBIA



MINSALUD

invimã
Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos

Definiciones – Ley 1787 de 2016

Sustancia Psicoactiva (SPA)

Natural
Sintético

Lícita
Ilícita

Controlada
Libre
comercialización

Dependencia
Tolerancia
Alteración psíquica
Alteración juicio, comportamiento,
ánimo

Estupefaciente

Natural
Sintético

Lista I o la Lista II de la Convención Única de 1961
sobre Estupefacientes

Planta de cannabis

Planta del género cannabis

Cannabis

Sumidades, floridas o con fruto
Excepción: semillas y hojas no unidas a las sumidades

Cannabis psicoactivo

Contenido de THC igual o superior al límite que
establezca el Gobierno Nacional

Presentación

Imagen tomada de: <https://www.google.com.co>



1. Objetivo
2. Soporte Técnico
3. Metodología
4. Validación Analítica
5. Resultados
6. Conclusiones
7. Bibliografía

1. Objetivo

Objetivo

Desarrollar la validación analítica para la identificación y cuantificación de Canabinoides por Cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) en Soluciones y Aceites

Artículo 2.8.11.2.1.11. Control de cannabinoides. Los titulares de licencia de fabricación de derivados de cannabis deberán, como mínimo, determinar por medio de metodologías analíticas validadas el contenido de tetrahidrocannabinol (THC), Cannabidiol (CBD) y Cannabinol (CBN) en toda cosecha de cannabis que reciban y en cada lote de derivado que se produzca.

Decreto 613 de 2017

2. Soporte Técnico

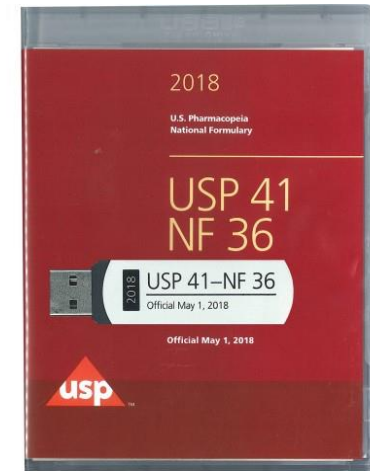
Soporte Técnico

Farmacopea de los Estados Unidos de América, USP – NF

<1225> Validación de procedimientos Farmacopeicos
<621> Cromatografía

Organización de las Naciones Unidas (2010)

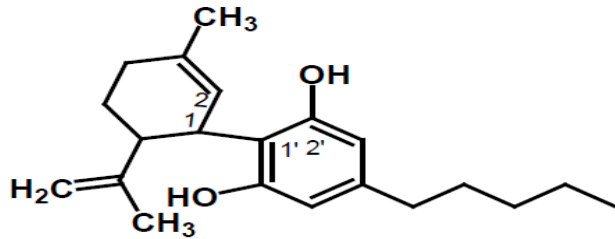
Métodos recomendados para la identificación y el análisis del cannabis y los productos del cannabis – Manual para uso de los laboratorios nacionales de estupefacientes



Canabinoides de estudio

Organización de las Naciones Unidas (2010). Métodos recomendados para la Identificación y el análisis del cannabis y los productos del cannabis – Manual para uso de los laboratorios nacionales de estupefacientes. Pág. 24 -25

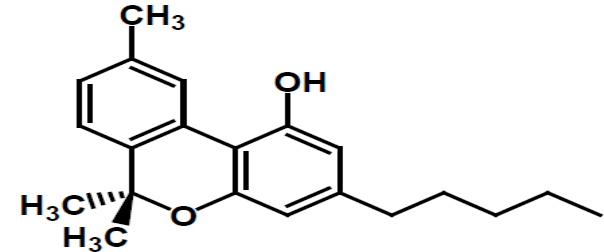
Cannabidiol
CBD



Principales características farmacológicas:

- Ansiolítico
- Anti-inflamatorio
- Antipsicótico
- Antiespasmódico
- Analgésico

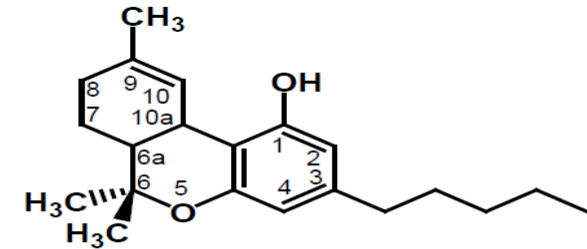
Cannabinol
CBN



Principales características farmacológicas:

- Sedante
- Anticonvulsivo
- Antibiótico
- Anti-inflamatorio

(-)- Δ^9 -trans-tetrahydrocannabinol
Tetrahydrocannabinol, THC



Principales características farmacológicas:

- Euforizante
- Anti-inflamatorio
- Analgésico
- Antiemético

Especificaciones

USP – NF / Decreto 613 de 2017

ENSAYO	ESPECIFICACIONES
Identificación de Canabinoides	El tiempo de retención del analito en la muestra es similar al tiempo de retención del estándar de Canabidiol, Canabinol y/o Δ^9 Tetrahydrocannabinol
Valoración de Canabinoides	90,0 % - 110,0 % de la cantidad declarada
Contenido de Δ^9 THC en derivados de Cannabis psicoactivo	Igual o superior al 1% en peso seco
Contenido de Δ^9 THC en derivados de Cannabis no psicoactivo	No mayor al 1% en peso seco

Aptitud de Sistema

Parámetro	Criterio
Resolución	No menor de 1,5 entre Canabidiol y Canabinol No menor de 1,5 entre Canabinol y Δ^9 Tetrahydrocannabinol
Asimetría	No menor a 2,0 para cada uno de los picos de los cannabinoides en estudio
Platos teóricos	No menor a 2000
RSD	No menor a 2,0 % entre inyecciones consecutivas del Estándar de Trabajo

3. Metodología

Equipos, Estándares y Reactivos

Imágenes tomadas de: <https://www.google.com.co>

Equipos:

- HPLC
- Balanza analítica
- Micropipeta



Estándares:

- Canabidiol
- Canabinol
- Δ^9 -THC



Reactivos:

- Agua purificada
- Solventes

Parámetros de validación

Parámetro a evaluar	Característica(s)
Especificidad	Interferencia de matriz- Pureza de pico
Linealidad	Linealidad del Sistema
	Linealidad del Método
Intervalo	Rango lineal
Precisión	Precisión del Sistema
	Repetibilidad (r) del Método
	Precisión Intermedia del Método
Limites	Límite de Detección (LD)
	Límite de Cuantificación (LC)
Exactitud	Porcentaje de Recuperación
Robustez	Efecto a dos niveles (Alto y Bajo)

Preparación Estándares y Muestras

Estándar individual

- Canabidiol
- Canabinol
- Δ^9 -THC

Estándar mixto

Muestras

- Triplicado
- Pesar 1 g o medir 1,0 mL
- Mezcla metanol:cloroformo

Filtrar para inyectar

4. Validación Analítica

Especificidad

Evaluación: Lectura de cromatogramas y espectros UV

1. Diluyente
2. Matriz-placebo: aceite de oliva
3. Pureza de pico
4. Degradación artificial

- Hidrólisis ácida
- Hidrólisis alcalina
- Hidrólisis neutra
- Oxidación
- Termólisis
- Fotólisis

Linealidad Sistema

Curva de Calibración:

- ✓ Soluciones madre (individuales)
- ✓ 5 niveles de concentración (mixto)
- ✓ Rango 20 ug/mL y 100 ug/mL

- ✓ Regresión lineal
- ✓ Estadístico *t student* y ANOVA

- ✓ Gráfico de linealidad

Solvente Metanol

Evaluación estadística:

- Pendiente
- Intercepto
- Coeficiente de correlación

Linealidad Método

Curva de Calibración:

- ✓ Soluciones madre (individuales)
- ✓ 5 niveles de concentración (mixto)
- ✓ Rango 20 ug/mL y 100 ug/mL

- ✓ Regresión lineal
- ✓ Estadístico *t student* y ANOVA

- ✓ Gráfico de linealidad

Solución Placebo

Evaluación estadística:

- Pendiente
- Intercepto
- Coeficiente de correlación

Precisión Sistema

Solución de Concentración teórica 100%

- ✓ Concentración 60 ug/mL (Stds. independientes)
- ✓ 6 lecturas

- ✓ Coeficiente de variación no mayor al 2,0%

Solvente Metanol

Precisión Método

Solución de Concentración teórica 100%

- ✓ 6 Soluciones madre (mixtas)
- ✓ 6 diluciones en metanol (Std mixto)
- ✓ Concentración 60 ug/mL

- ✓ Coeficiente de variación no mayor al 2,0%

Solución Placebo

Precisión Intermedia

Dos analistas durante tres días consecutivos

✓ Solución de Concentración teórica 100%

- ✓ 6 Soluciones madre (mixtas)
- ✓ 6 diluciones en metanol (Std mixto)
- ✓ Concentración 60 ug/mL

✓ Coeficiente de variación no mayor al 2,0%

Solución Placebo

Exactitud Método

Solución de Concentración teórica 100%

- ✓ Soluciones madre (mixtas)
- ✓ 3 niveles de concentración: 33,3%, 100,0% y 166,6%
- ✓ 3 preparaciones por nivel
- ✓ 9 determinaciones
- ✓ Cálculo % Recuperación

- ✓ Estadístico G de Cochran
- ✓ Estadístico *t student*

Solución Placebo

LC y LD

Curva de concentraciones bajas

- ✓ Solución madre: 20 ug/mL
- ✓ 5 niveles de concentración entre 0,1 ug/mL y 2,0 ug/mL
- ✓ Extrapolación a cero donde y =áreas x =conc. (y_{blanco})
- ✓ Extrapolación a cero donde y =desvest x =conc. (S_{blanco})
- ✓ Valor de *Pendiente*, b , en curva de linealidad

$$LC = \frac{y_{\text{blanco}} + 10S_{\text{blanco}}}{b} * \frac{1}{\sqrt{n}}$$

$$LD = \frac{y_{\text{blanco}} + 3S_{\text{blanco}}}{b} * \frac{1}{\sqrt{n}}$$

✓ Verificación de LC y LD

Solución Placebo

Robustez

Modelo Plackett y Burman

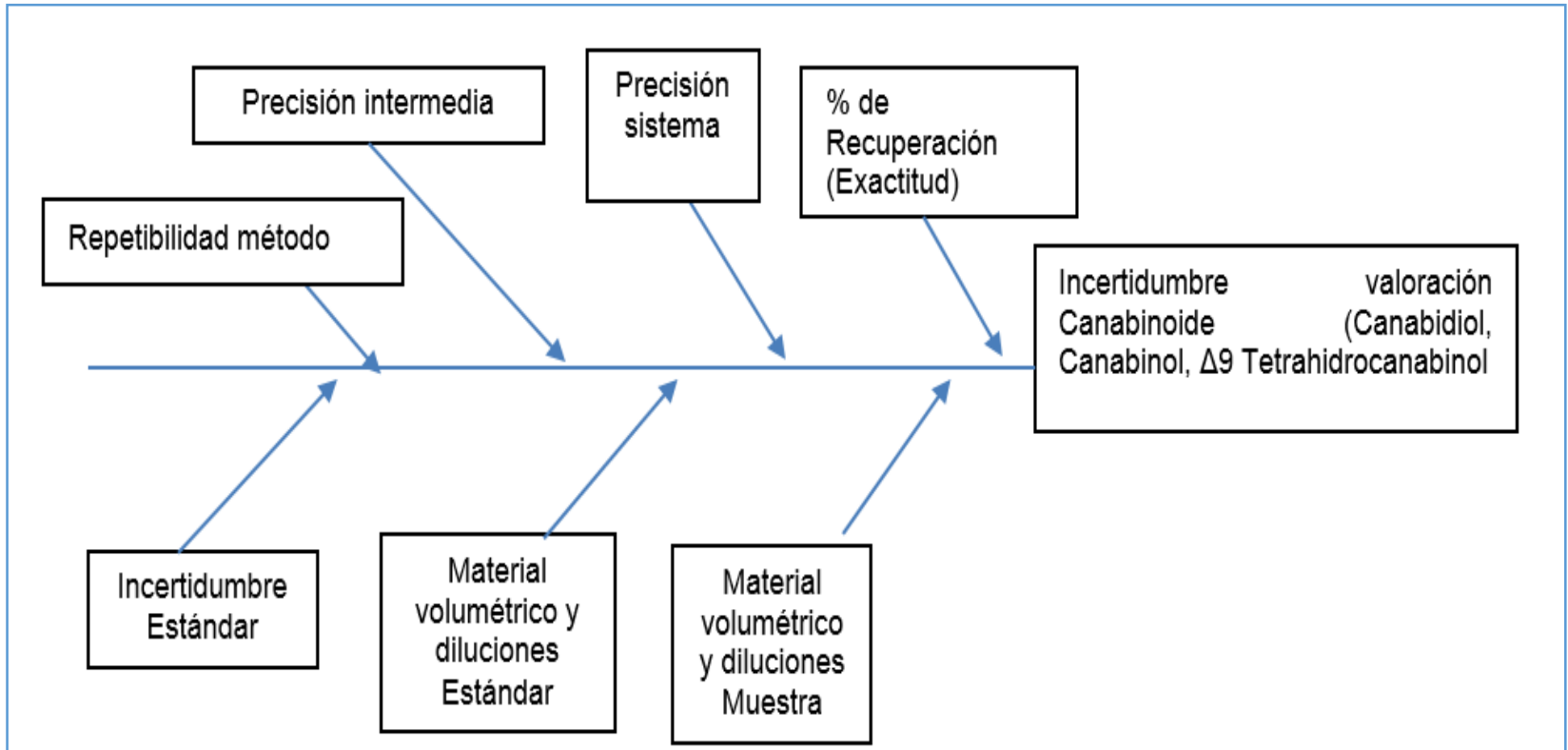
Variable	Nivel alto	Nivel bajo
Temperatura de columna	32 °C (A)	28 °C (a)
Tiempo de preparación	1 hora (B)	10 minutos (b)
Longitud de onda	222 nm (C)	218 nm (c)
Flujo	1,1 mL/min (D)	0,9 mL/min (d)
Composición Fase móvil	Acetonitrilo : Agua (8,2 : 1,8) (E)	Acetonitrilo : Agua (7,8 : 2,2) (e)
Columna	Fabricante 1 (F)	Fabricante 2 (f)
Equipo	Agilent (G)	Waters (g)

Robustez

Ensayo	Factor A/a	Factor B/b	Factor C/c	Factor D/d	Factor E/e	Factor F/f	Factor G/g	Resultado
1	A	B	C	D	E	F	G	s
2	A	B	c	D	e	f	g	t
3	A	b	C	d	E	f	g	u
4	A	b	c	d	e	F	G	v
5	a	B	C	d	e	F	g	w
6	a	B	c	d	E	f	G	x
7	a	b	C	D	e	f	G	y
8	a	b	c	D	E	F	g	z

Estimación de Incertidumbre

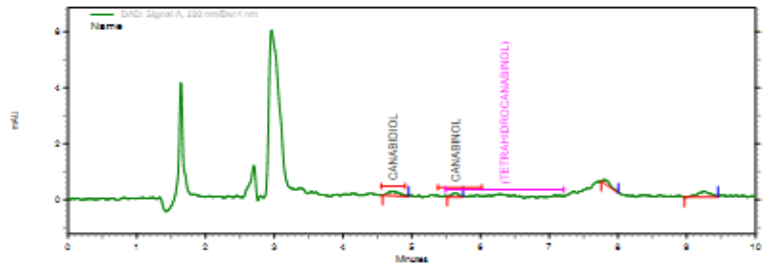
Fuentes de Incertidumbre en Valoración de Canabinoides



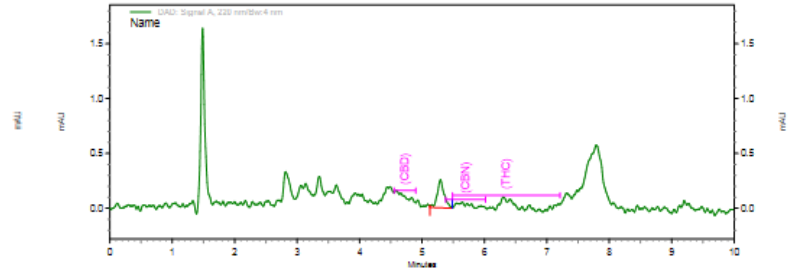
5. Resultados

Especificidad

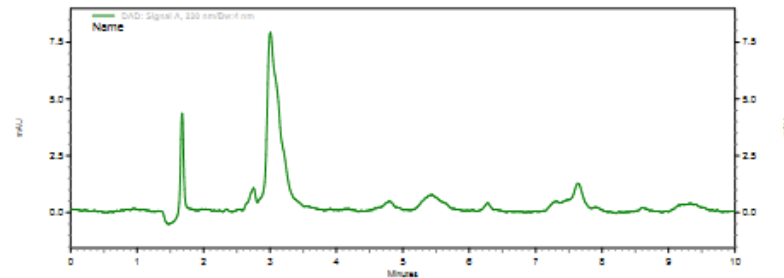
a. Evaluación de Diluyente:



b. Evaluación de Fase Móvil:

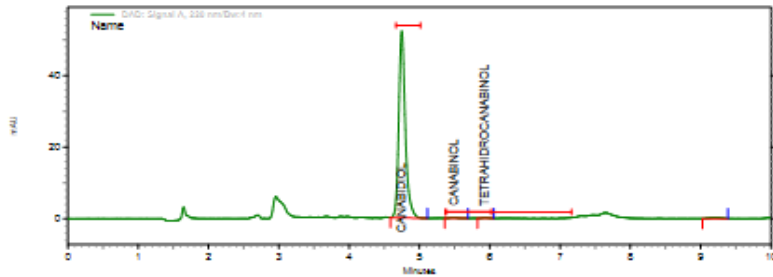


c. Evaluación de Placebo (Aceite de Oliva):

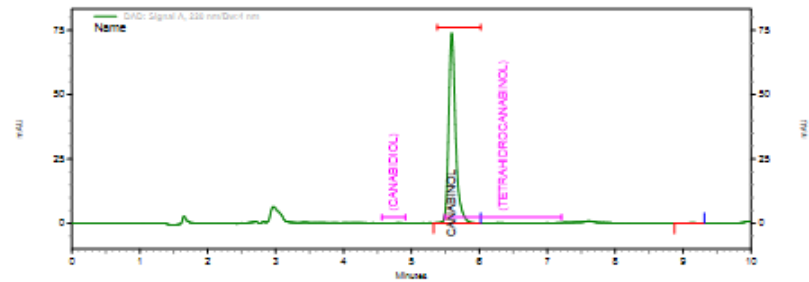


Especificidad

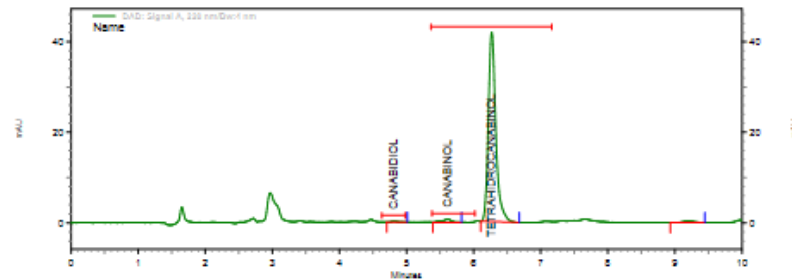
d. Canabidiol:



e. Canabinol:



f. THC:



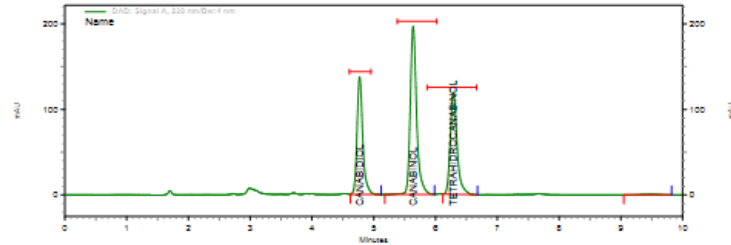
Especificidad

g. Estándar mixto de Canabinoides:

LABORATORIO DE PRODUCTOS FARMACEUTICOS Y OTRAS TECNOLOGIAS.

Data File: C:\Enterprise Projects\Canabinoides\Result\LIN SISTEMA METODO PRECISION SISTEMA.seq.rsl\Lin Met 1
 -7.Repl.dat
 Method: C:\Enterprise Projects\Canabinoides\Method\Canabinoides.met
 Acquired: 2018-01-23 7:58:48 PM (GMT -05:00)
 Printed: 2018-01-29 7:35:37 PM (GMT -05:00)

Sample Amt: 1
 Multiplier: 1



Channel A

DAD: Signal A, 220 nm/Bw: 4 nm Results

Name	Time	Area	Width
CANABIDIOL	4.773	1843328	0.50
CANABINOL	5.640	2950060	0.81
TETRAHIDROCANABINOL	6.287	1927120	0.56
	9.500	28183	0.77

Totals			
		6748691	

DAD: Signal A, 220 nm/Bw: 4 nm Results

Name	Theoretical plates (USP)	Resolution (USP)	Capacity factor	Asymmetry
CANABIDIOL	14328	0.00000	22.86867	1.26521
CANABINOL	15920	5.12350	27.20000	1.28642
TETRAHIDROCANA BINOL	16573	3.45690	30.43333	1.35352
	3476	7.65168	46.50000	0.00000

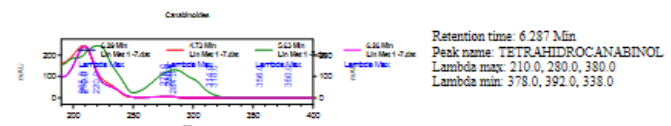
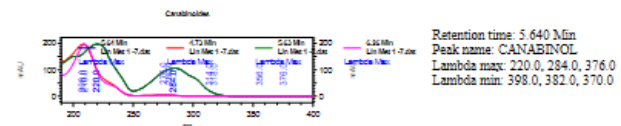
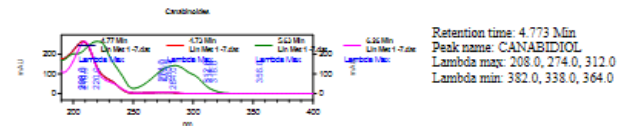
Totals			

Spectrum Report

Spectra of all named detected peaks

(The peak spectrum is defined as the peak apex spectrum)

DAD: Signal A, 220 nm/Bw: 4 nm Spectra



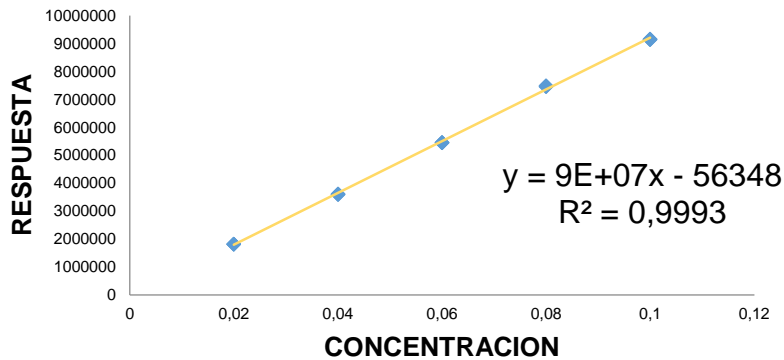
Especificidad

Porcentaje de degradación

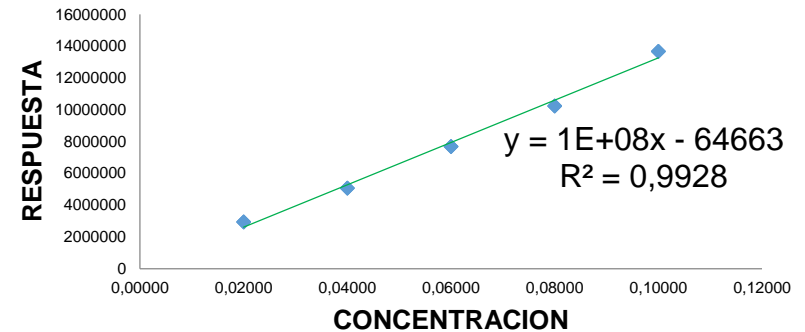
TIPO MUESTRA	CONDICIÓN	% DEGRADADO CANABIDIOL	% DEGRADADO CANABINOL	% DEGRADADO THC
PLACEBO + ANALITO	Control	0,0	0,0	0,0
	HCl reflujo	4,5	22,6	2,1
	NaOH reflujo	0,0	9,3	6,4
	Hidrolisis Neutra	10,1	12,2	8,0
	Oxidación H ₂ O ₂ reflujo	7,4	10,5	8,5
	Tratamiento térmico	3,3	2,4	8,5
	Fotolisis- Luz UV	4,1	15,1	6,4

Linealidad del Sistema

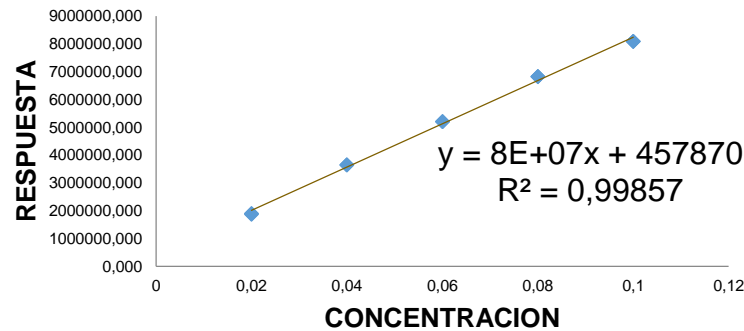
CANABIDIOL



CANABINOL



Δ^9 TETRAHIDROCANABINOL



Linealidad del Sistema

Análisis estadístico Canabidiol

ANOVA para la regresión

$$H_0: \beta_1 = 0$$

$$H_a: \beta_1 \neq 0$$

REGRESION LINEAL

Pendiente (b)	92681265
Intersección (a)	-56347,7
Coefficiente de Correlación r²	0,999664079

FUENTE VARIACION	gl	SC	SCM	F	F tabla
Regresión	1	1,03078E+14	1,03078E+14	19340,1	4,7
Error Residual	13	69286824468	5329755728		
Linealidad	3	67734876882	22578292294	145,5	3,7
Error Puro	10	1551947586	155194758,6		
Total	14				

Correlación entre variables	$F_{exp} > F_{t_{tabla}}$, se rechaza H_0 , la variable independiente (X) si tiene efecto significativo sobre la variable dependiente (Y).	CUMPLE
Desvios	$F_{exp} > F_{t_{tabla}}$, se rechaza H_0 , con lo cual se demuestra que en el rango seleccionado de trabajo existe completa linealidad y no hay desvíos positivos ni negativos de la misma	CUMPLE

Linealidad del Sistema

Pendiente

$$H_0 : B = 0$$

$t_{exp} = b-B / s_b$	139,068549
t_{tabla}	2,16
$t_{exp} > t_{tabla}$, se rechaza H_0 , la pendiente es diferente de cero	CUMPLE
Los límites No incluyen al 0	CUMPLE

Análisis estadístico Canabidiol

Intercepto

$$H_0 : a = 0$$

$t_{exp} = a-0 / S_a$	-1,274637895
t_{tabla}	2,16
$t_{exp} < t_{tabla}$, no se rechaza H_0 , hay convergencia al origen	CUMPLE
Los límites incluyen al 0	CUMPLE

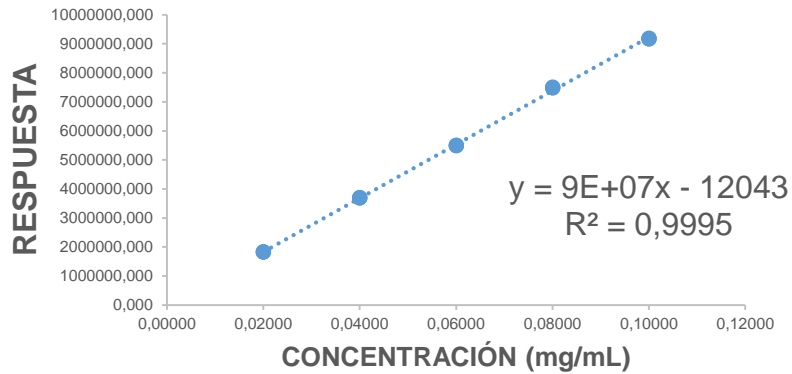
Coeficiente de correlación

$$H_0 : r = 0$$

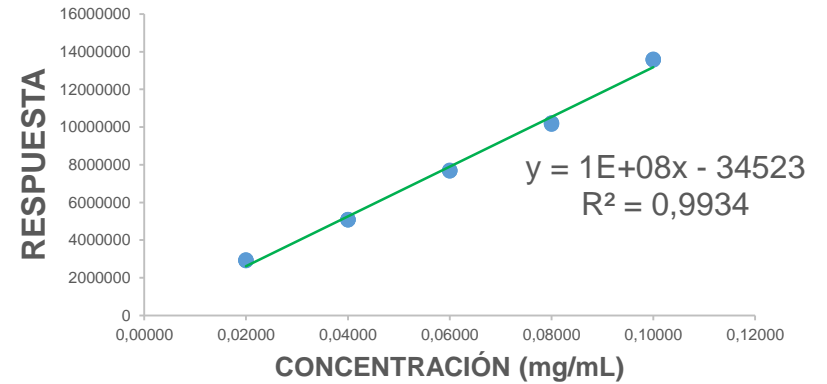
$t_{exp} = r \sqrt{(n-2)} / \sqrt{(1-r^2)}$	139,068549
t_{tabla}	2,16
$t_{exp} > t_{tabla}$, se rechaza H_0 , hay correlación	CUMPLE

Linealidad del Método

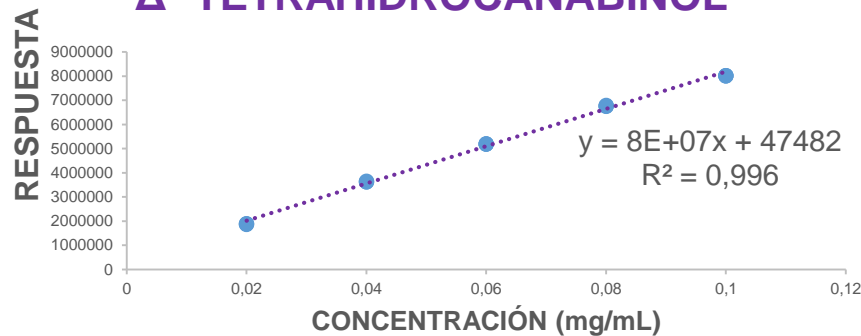
CANABIDIOL



CANABINOL



Δ^9 TETRAHIDROCANABINOL



Linealidad del Método

Análisis estadístico Canabidiol

ANOVA para la regresión

$$H_0: \beta_1 = 0$$

$$H_a: \beta_1 \neq 0$$

REGRESION LINEAL

Pendiente (b)	92482018,33
Intersección (a)	-12043,16667
Coefficiente de Correlación r²	0,999766391

FUENTE VARIACION	gl	SC	SCM	F	F tabla
Regresión	1	1,02635E+14	1,02635E+14	27814,6	4,7
Error Residual	13	47969710999	3689977769		
Linealidad	3	47328828054	15776276018	246,2	3,7
Error Puro	10	640882944,7	64088294,47		
Total	14				

Correlación entre variables	$F_{exp} > F_{t_{tabla}}$, se rechaza H_0 , la variable independiente (X) si tiene efecto significativo sobre la variable dependiente (Y).	CUMPLE
Desvios	$F_{exp} > F_{t_{tabla}}$, se rechaza H_0 , con lo cual se demuestra que en el rango seleccionado de trabajo existe completa linealidad y no hay desvíos positivos ni negativos de la misma	CUMPLE

Linealidad del Método

Análisis estadístico Canabidiol

Pendiente

$$H_0 : B = 0$$

$t_{exp} = b - B / s_b$	166,7769578
t_{tabla}	2,16
$t_{exp} > t_{tabla}$, se rechaza H_0 , la pendiente es diferente de cero	CUMPLE
Los límites No incluyen al 0	CUMPLE

Intercepto

$$H_0 : a = 0$$

$t_{exp} = a - 0 / S_a$	-0,32741088
t_{tabla}	2,16
$t_{exp} < t_{tabla}$, no se rechaza H_0 , hay convergencia al origen	CUMPLE
Los límites incluyen al 0	CUMPLE

Coeficiente de correlación

$$H_0 : r = 0$$

$t_{exp} = r \sqrt{(n-2)} / \sqrt{(1-r^2)}$	166,7769578
t_{tabla}	2,16
$t_{exp} > t_{tabla}$, se rechaza H_0 , hay correlación	CUMPLE

Precisión Sistema

6 lecturas

REPLICA	Respuesta Instrumental Canabidiol	Respuesta Instrumental Canabinol	Respuesta Instrumental THC
Promedios	5424009,67	7646528,00	5117116,17
s	5935,10	21871,41	10951,65
RSD	0,11%	0,29%	0,21%
Concepto	Conforme	Conforme	Conforme
Criterio	No mayor a 2,0 %	No mayor a 2,0 %	No mayor a 2,0 %

Precisión Método - Repetibilidad

6 preparaciones

MUESTRA	% Hallado Canabidiol	% Hallado Canabinol	% Hallado THC
Promedio	100,4	100,6	100,1
s	0,75	0,91	0,69
RSD	0,74%	0,90%	0,69%
LC	0,78	0,95	0,73
Límite Superior	101,2	101,6	100,8
Límite Inferior	99,6	99,7	99,4
Conclusión	CUMPLE CV%	CUMPLE CV%	CUMPLE CV%

Precisión Intermedia

Canabidiol

Muestra	% Calculado Día 1	% Calculado Día 2	% Calculado Día 3
1	101,3	101,8	99,8
2	101,5	99,7	100,1
3	99,7	100,3	100,8
PROMEDIO	100,8	100,6	100,2
s	0,98	1,09	0,50
RSD	0,97	1,08	0,50

Promedio Global	100,76
Desviación Estándar Global	0,79
%CV Global	0,78
LC	0,39
Límite Superior	101,1
Límite Inferior	100,4
Conclusión	CUMPLE

Precisión Intermedia

Canabinol

Muestra	% Calculado Día 1	% Calculado Día 2	% Calculado Día 3
1	100,2	100,5	101,7
2	100,8	100,6	101,3
3	101,7	101,8	100,5
PROMEDIO	100,9	100,9	101,2
s	0,73	0,76	0,62
RSD	0,72	0,76	0,61

Promedio de % Global	100,84
Desviación Estándar Global	0,80
%CV Global	0,80
LC	0,40
Límite Superior	101,2
Límite Inferior	100,4
Conclusión	CUMPLE

Precisión Intermedia

THC

Muestra	% Calculado Día 1	% Calculado Día 2	% Calculado Día 3
1	101,2	99,8	100,7
2	101,8	99,8	99,8
3	100,4	101,4	101,4
PROMEDIO	101,1	100,3	100,6
s	0,73	0,94	0,83
RSD	0,73	0,94	0,82

Promedio de % Global	100,65
Desviación Estándar Global	0,77
%CV Global	0,76
LC	0,38
Límite Superior	101,0
Límite Inferior	100,3
Conclusión	CUMPLE

Exactitud

Nivel	% Recuperado Canabidiol	% Recuperado Canabinol	% Recuperado THC
1	98,49	102,36	98,20
2	99,03	99,52	100,08
3	99,26	101,15	99,82
Promedio	98,93	101,01	99,37
S	0,034	0,035	0,035
RSD	57,948	57,805	58,039
G_{exp}	0,82	0,78	0,85
G_{tabla} 3,3	0,87	0,87	0,87
t_{exp}	966,886	953,443	959,273
t_{tabla}	2,31	2,31	2,31
CONCEPTO	CUMPLE	CUMPLE	CUMPLE

Límite Detección - Cuantificación

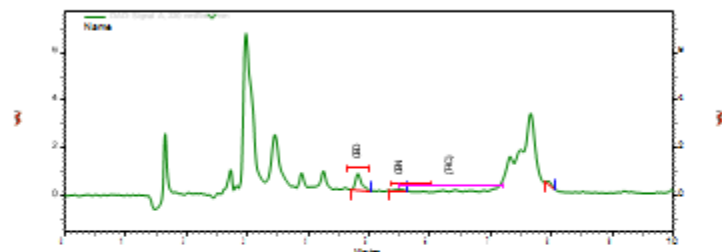
Analito / Parámetro	Límite de Cuantificación	Límite de Detección
Canabidiol	0,0793 ug/mL	0,0465 ug/ mL
Canabinol	0,0383 ug/mL	0,0235 ug/mL
THC	0,0941 ug/mL	0,0456 ug/mL

Límite Cuantificación

LABORATORIO DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS Y OTRAS TECNOLOGÍAS.

Data File: C:\Entregas\Proyecto Cannabis\Resultados\Datos\análisis\Verif-1-Regul.dat
 Método: C:\Entregas\Proyecto Cannabis\Resultados\Método de Cannabis\met
 Adquirido: 2018-02-21 4:47:06AM (GMT -05:00)
 Impreso: 2018-02-27 5:10:12PM (GMT -05:00)

Sample Amp: 1
 Multiplicar: 1



Channel A

DAD: Signal A, 220 nm Bw:4 nm Results

Name	Time	Area	Width
CANABIDIOL	4.815	5859	0.31
CANABINOL	5.573	2988	0.27
TETRAHIDROCANABINOL	6.337	2113	0.17
Totals		10960	

DAD: Signal A, 220 nm Bw:4 nm Results

Name	Theoretical plates (USP)	Resolution (USP)	Capacity factor	Asymmetry
CANABIDIOL	10741	0.00000	21.12267	1.34334
CANABINOL	43250	0.00000	24.35498	1.33540
TETRAHIDROCANABI	45456	0.00000	38.73333	1.89574
Totals				

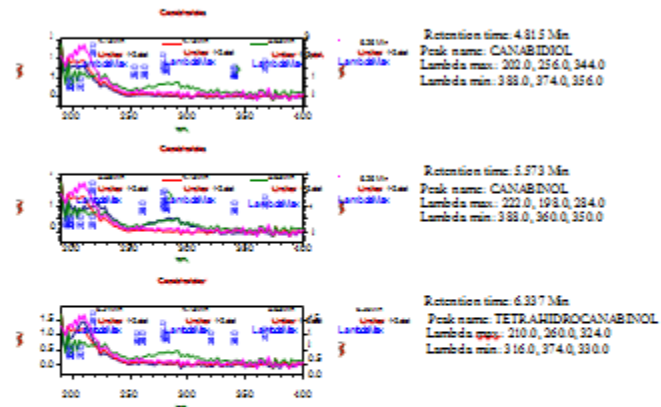
Comprobación

Spectrum Report

Spectra of full named detected peaks

(The peak spectrum is defined as the peak apex spectrum)

DAD: Signal A, 220 nm Bw:4 nm Spectra



Robustez

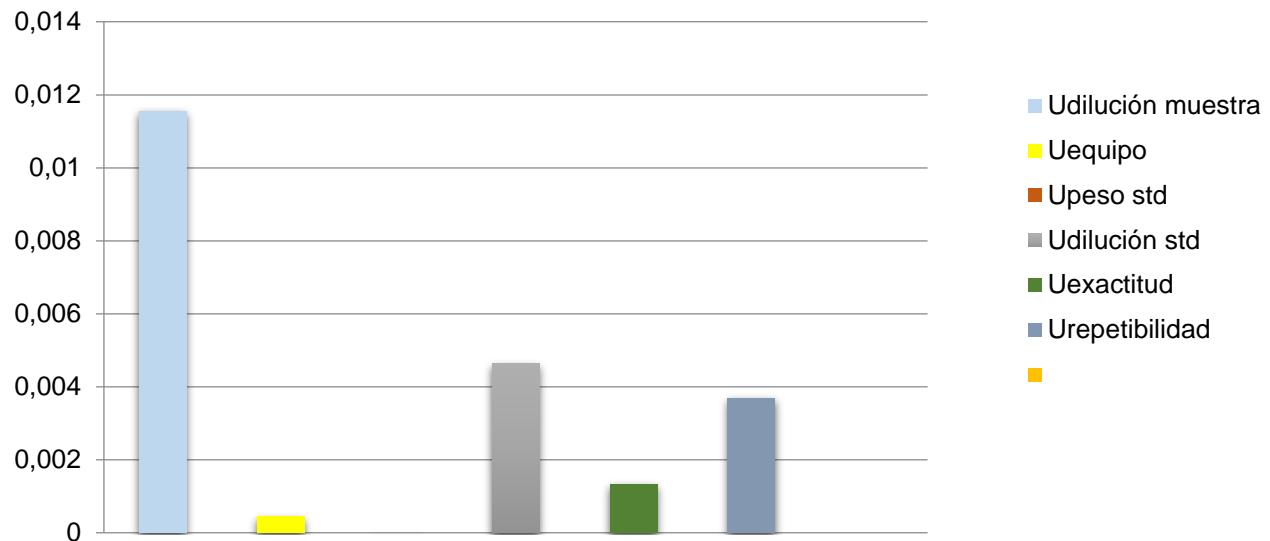
Solidez

Variable	Canabidiol	Canabinol	THC
Temperatura de columna (A/a)	No influye	No influye	Influye
Tiempo de preparación (B/b)	No influye	No influye	No influye
Longitud de onda (C/c)	No influye	No influye	No influye
Flujo (D/d)	No influye	No influye	No influye
Composición Fase móvil (E/e)	No influye	No influye	No influye
Columna (F/f)	Influye	No influye	No influye
Equipo (G/g)	Influye	No influye	No influye

Estimación Incertidumbre

$$U_{\text{expandida}} = \pm 0,052 \text{ mg/mL}; (\text{factor de cobertura } k = 2)$$

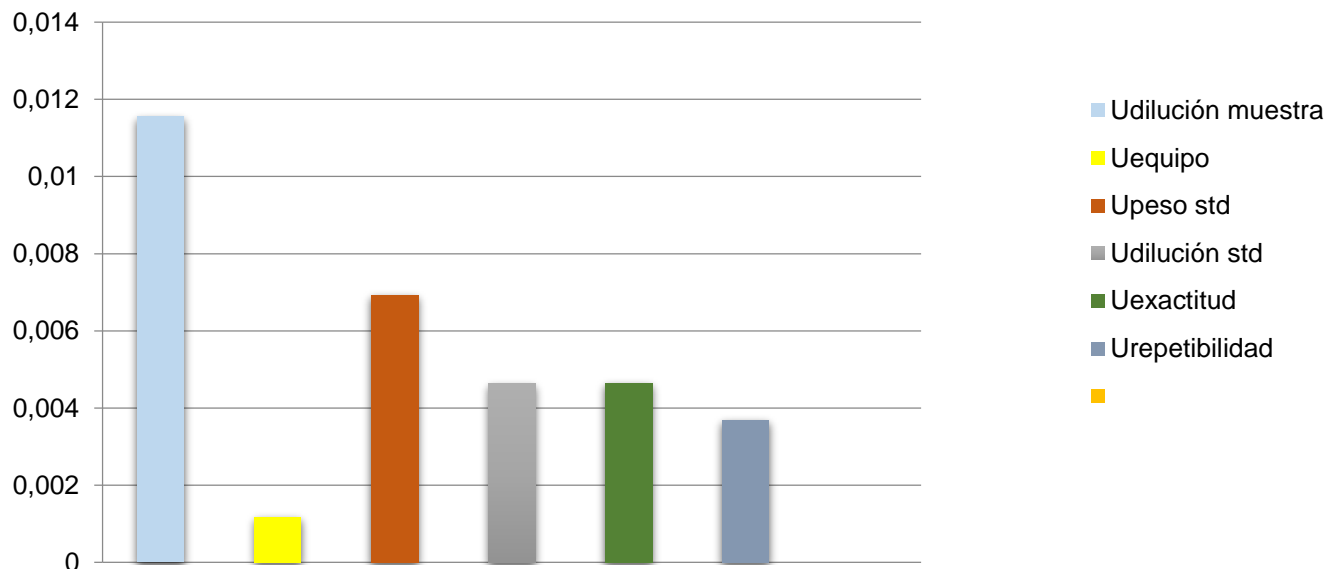
Evaluación de los componentes de Incertidumbre Canabidiol



Estimación Incertidumbre

$$U_{\text{expandida}} = \pm 0,0620 \text{ mg/mL ; (factor de cobertura } k = 2)$$

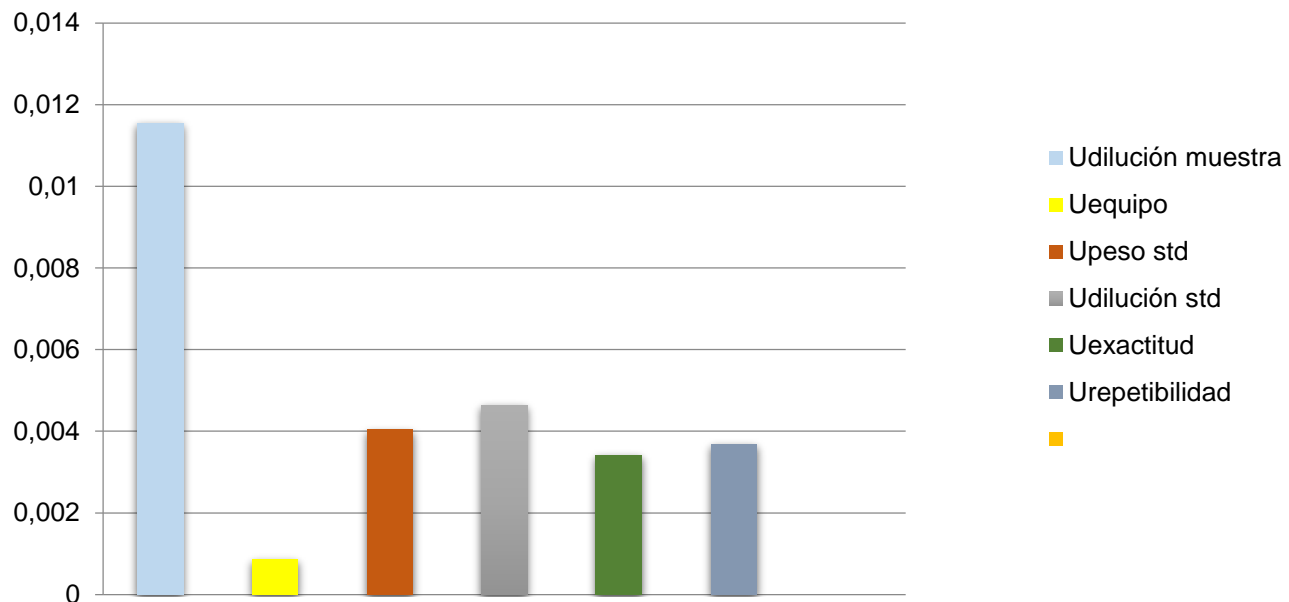
Evaluación de los componentes de Incertidumbre Canabinol



Estimación Incertidumbre

$U_{\text{expandida}} = \pm 0,0282 \text{ mg/mL}$; (factor de cobertura $k = 2$)

Evaluación de los componentes de Incertidumbre $\Delta 9$ Tetrahydrocannabinol

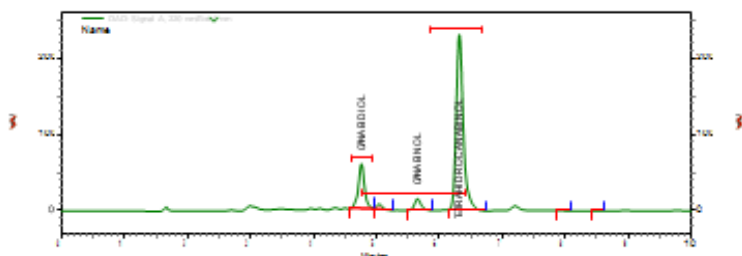


Análisis aceite medicinal

LABORATORIO DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS Y OTRAS TECNOLOGÍAS

Data File: C:\Ensayos e Proyectos\Canabinoles\RAW\MUESTRA ACEITE\0101\Análisis 1.Precision.D\1 1
 -Raw1.das
 Method: C:\Ensayos e Proyectos\Canabinoles\Method\Canabinoles.met
 Acquired: 2018-01-30 2:57:47PM (GMT -05:00)
 Printed: 2018-01-30 7:21:56PM (GMT -05:00)

Sample Amt: 1
 Multiplier: 1



Channel A

DAD: Signal A, 220 nm Bw: 4 nm Resolv:

Name	Time	Area	Width
CANABIDIOL	4.760	889787	0.19
CANABINOL	5.040	105239	0.19
CANABINOL	5.647	220894	0.19
TETRAHIDROCANABINOL	6.313	3776983	0.17
	7.913	2150	0.11
	8.533	1703	0.11

Totals		4098776	
--------	--	---------	--

DAD: Signal A, 220 nm Bw: 4 nm Resolv:

Name	Theoretical plates (USP)	Resolution (USP)	Capacity factor	Asymmetry
CANABIDIOL	12413	0.00000	22.80000	1.04261
CANABINOL	15064	1.67090	24.20000	0.00000
CANABINOL	15499	3.50995	27.23334	1.23455
TETRAHIDROCANA BINOL	16260	3.51365	30.56667	1.35898
	0	0.00000	38.56667	2.70307
	37328	0.00000	41.66667	0.00000

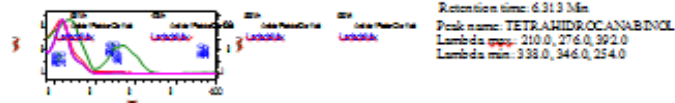
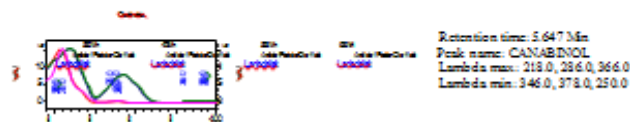
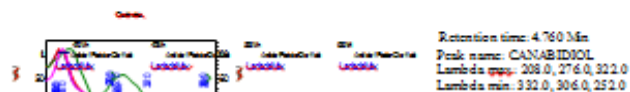
Totals

Spectrum Report

Spectra of all named detected peaks

(The peak spectrum is defined as the peak apex spectrum)

DAD: Signal A, 220 nm Bw: 4 nm Spectrum



6. Conclusiones

Conclusiones

Parámetro a evaluar	Característica(s)	Especificación del parámetro	Conclusión
Especificidad	Interferencia de matriz- Pureza de pico	No debe presentar interferencias	No presenta interferencias
Linealidad	Linealidad del Sistema	Coefficiente de determinación (R^2), es no menos de 0,99	R^2 Canabidiol = 0,9993 R^2 Canabinol = 0,9928 R^2 THC = 0,99857
	Linealidad del Método	Coefficiente de determinación (R^2), es no menos de 0,99	R^2 Canabidiol = 0,9995 R^2 Canabinol = 0,9934 R^2 THC = 0,996
Intervalo	Rango lineal	20 ug/mL - 100 ug/mL Análisis Estadístico t de Student Análisis de Varianzas	El sistema es lineal en el intervalo de 20 ug/mL a 100 ug/mL
Precisión	Precisión del Sistema	%RSD no mayor a 2,0%	%RSD Canabidiol = 0,11% %RSD Canabinol = 0,29 % %RSD THC = 0,21 %
	Repetibilidad (r) del Método	% RSD no mayor a 2,0%	%RSD Canabidiol = 0,74 % %RSD Canabinol = 0,90 % %RSD THC = 0,69 %
	Precisión Intermedia del Método	% RSD no mayor a 2,0%	%RSD Canabidiol = 0,78 % %RSD Canabinol = 0,80 % %RSD THC = 0,76 %

Conclusiones

Parámetro a evaluar	Característica(s)	Especificación del parámetro	Conclusión
Limites	Límite de Detección (LD)	Detección mínima de Canabinoides	LD Canabidiol = 0,0465 ug/mL LD Canabinol = 0,0235 ug/mL LD THC = 0,0456 ug/MI
	Límite de Cuantificación (LC)	Cuantificación de Canabinoides con precisión y exactitud	LC Canabidiol = 0,0793 ug/mL LC Canabinol = 0,0383 ug/mL LC THC = 0,0941 ug/mL
Exactitud	Porcentaje de Recuperación	Recuperación comprendida entre 33,3% ,100,0 % y 166,6% para cada uno de los canabinoides	Recuperación Canabidiol = 98,93 % Recuperación Canabinol = 101,01 % Recuperación THC = 99,37 %
Robustez	Efecto a dos niveles (Alto y Bajo)	Modelo Plackett y Burman	Canabidiol = Influyen columna y equipo Canabinol = No influye THC = Influye temperatura de la columna

7. Bibliografía

Bibliografía

INSTITUTO NACIONAL DE VIGILANCIA DE MEDICAMENTOS Y ALIMENTOS. 2016. Procedimiento de validaciones o verificaciones PA02-PM-602-P002. Versión: 09. Invima. Bogotá, D.C., Colombia.

THE UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION. Farmacopea de los Estados Unidos de América, USP – NF Volumen 1, Capítulo <1225> Validación de procedimientos Farmacopeicos. Rockville. Estados Unidos de América.

THE UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION. Farmacopea de los Estados Unidos de América, USP - NF Volumen 1, Capítulo <621> Cromatografía. Rockville. Estados Unidos de América.

Organización de las Naciones Unidas (2010). Métodos recomendados para la identificación y el análisis del cannabis y los productos del cannabis – Manual para uso de los laboratorios nacionales de estupefacientes.

Gracias