

UNIVERSIDAD INTERNACIONAL DE LAS AMÉRICAS

FACULTAD DE SALUD

ESCUELA DE FARMACIA



TÍTULO DEL PROYECTO:

“Desarrollo de un método analítico de cuantificación de CBD e identificación de THC en CBD materia prima, y su debida validación, para su utilización en productos fabricados por Laboratorios Zepol S.A, durante el segundo semestre del 2023”

Nombre del estudiante:

Iván Enrique Rodríguez Orozco

Tutor profesional:

Ronald Martínez Dormond

Año:

2023.

Modalidad de internado en Farmacia Industrial para optar por el grado de

Licenciatura en Farmacia

I. Agradecimientos.

En primer lugar, agradecerle a Dios por darme el don de la vida y la capacidad de poder luchar por mis sueños y luchar por todo lo que me proponga, agradecer profundamente a mis padres, Rosa Orozco Naranjo y Warner Rodríguez Murillo por ser siempre unos excelentes pilares, padres y ejemplos de vida en todos estos años, por criarme de la forma en lo que hicieron y darme las bases para ser una persona de bien y agradecida. Les agradezco por todo el esfuerzo, trasnochadas y retos en los cuales estuvieron presentes desde mi infancia hasta el día de hoy.

Agradezco a mis hermanos, primos y demás familiares que siempre están para mí en todo momento, a mis amigos por están atentos a mi trayectoria en toda la universidad y que, a pesar de verlos poco, están ahí para cuando los requiero. Le agradezco de corazón a mi pareja por estar presente en prácticamente toda mi etapa en la Universidad estudiando Farmacia, por ser mi compañera de vida y de estudios y sacar lo mejor de mí en estos últimos años, por hacer de mis ratos de Universidad menos estresados y más bonitos.

Agradezco a todos los profesores que me dejaron una enseñanza o una semilla de conocimiento en todo este proceso de estudio, tanto en la UIA como en la UCR.

Finalmente, le externo un profundo agradecimiento a Laboratorios Zepol S.A por darme la oportunidad de hacer el internado, en especial al departamento de dirección técnica, mi tutor Ronald Martínez, Ema, Asdru, Ale, don Heyner. A todos los chicos del Laboratorio, a Dani, Ferreto, Arlin, a las pasantes Valeria y Priscila. Además, a todo el personal al cual le guardo un gran cariño y que me acogieron durante estos últimos 6 meses.

II. Dedicatoria.

Este trabajo final de graduación primeramente se lo dedico a Dios por darme la fuerza, la capacidad, la paciencia y la disciplina para seguir cada día de mi vida luchando por cumplir todo lo que me proponga. Por ser pilar fundamental de mi vida y de mi familia.

Se lo dedico a mis papás, por todo el sacrificio que han hecho por mí y por siempre ser un excelente ejemplo en mi vida, siempre haciendo que nunca me falte nada ni a mi ni a mis hermanos. Este trabajo se lo dedico a ellos porque refleja el buen trabajo que han hecho siendo padres y porque realmente es el resultado de muchos años.

Finalmente, me dedico el presente trabajo final de graduación por todo el esfuerzo durante todos estos años de estudio y que sirva de motivación para seguir creciendo como profesional y seguir haciendo crecer esta hambre de conocimiento y formación.

III. Tabla de contenidos.

I. Agradecimientos.....	2
II. Dedicatoria.....	3
III. Tabla de contenidos.....	4
IV. Lista de Tablas.....	7
V. Lista de figuras.....	9
VI. Abreviaturas.....	10
CAPÍTULO I – INTRODUCCIÓN.....	11
1.1. Introducción.....	12
1.2. Justificación.....	14
1.3. Objetivos.....	15
1.3.1. Objetivo General.....	15
1.3.2. Objetivos específicos.....	16
CAPITULO II - MARCO REFERENCIAL.....	17
2.1 Formulación de productos.....	18
2.1.1. Excipientes.....	18
2.1.2. Principio activo.....	18
2.2. Método analítico.....	19
2.2.1. Cuantificación de sustancias.....	19
2.2.2. Identificación de sustancias.....	20
2.3. Validación de métodos analíticos.....	21
2.3.1. Exactitud.....	21
2.3.2. Precisión.....	22
2.3.3. Especificidad.....	22
2.3.4. Límite de detección.....	22
2.3.5. Límite de cuantificación.....	22
2.3.6. Linealidad.....	22

2.3.7. Rango.....	22
2.3.8. Robustez.....	23
2.4. Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 11.03.39:06 Productos Farmacéuticos. Reglamento de Validación de Métodos Analíticos para la Evaluación de la Calidad de los Medicamentos.	23
2.4.1. Validación de un método analítico de cuantificación.....	23
2.4.2. Validación de un método analítico de identificación.....	25
2.5. <i>Cannabis sativa L.</i>	25
2.5.1 Cannabidiol.....	25
2.5.2. Tetrahidrocannabinol.....	26
CAPITULO III - MARCO METODOLÓGICO	28
3.1. Especificación operacional de las actividades a realizar.....	29
3.2. Métodos y técnicas por utilizar.	31
3.3. Calendario de actividades para el Trabajo Final de Graduación.....	36
3.4. Determinación de los recursos necesarios.....	38
3.5. Cálculo de costos generales de ejecución.	39
3.6 Organigrama de las partes involucradas con el TFG	39
3.7. Pre-requisitos para el logro de los efectos e impacto del proyecto	39
CAPÍTULO IV - LOGROS Y RECOMENDACIONES	41
4.1. Logros del proceso	42
4.1.1. Desarrollar un método analítico de cuantificación de CBD en CBD materia prima, para su utilización en productos fabricados por Laboratorios Zepol S.A, basándose en SOP's internos, libros oficiales y regulaciones internacionales de la industria farmacéutica.	42
4.1.2. Desarrollar un método de identificación de THC en CBD materia prima, para su utilización en productos fabricados por Laboratorios Zepol S.A, basándose en SOP's internos, libros oficiales y regulaciones internacionales de la industria farmacéutica. .	46
4.1.3. Validar el método analítico de cuantificación de CBD e identificación de THC en CBD materia prima, para su utilización en productos fabricados por Laboratorios Zepol S.A, basándose en SOP's internos, libros oficiales y regulaciones internacionales de la industria farmacéutica.	49

4.2. Recomendaciones.....	61
CAPÍTULO V - REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62
CAPÍTULO VI – ANEXOS	68

IV. Lista de Tablas.

Tabla 1. Recopilación de abreviaturas utilizadas en el Trabajo Final de Graduación y sus significados.....	<u>107</u>
Tabla 2. Parámetros de desempeño de los procedimientos analíticos fisicoquímicos y potencia microbiológica.....	<u>2421</u>
Tabla 3. Descripción de las actividades realizadas en el desarrollo del Trabajo Final de Graduación, según el rol de cada participante	<u>2927</u>
Tabla 4. Cronograma de actividades para el desarrollo del proyecto en el período del internado.	<u>3633</u>
Tabla 5. Materiales y equipos requeridos para la valoración de CBD en CBD materia prima	<u>4240</u>
Tabla 6. Parámetros para utilizar y configurar para realizar el método analítico de cuantificación de CBD.....	<u>4442</u>
Tabla 7. Significado de las variables de la fórmula para el cálculo de % de CBD en la materia prima	<u>4542</u>
Tabla 8. Materiales y equipos requeridos para la identificación de THC en CBD materia prima	<u>4644</u>
Tabla 9. Parámetros por utilizar y configurar para realizar el método analítico de identificación de THC.....	<u>4846</u>
Tabla 10. Clasificación de las Pruebas según categoría. Anexo B del SOP-LAB-02 Validación de Métodos Analíticos.....	<u>4947</u>
Tabla 11. Pruebas de desempeño para cada prueba de la presente validación de método analítico.....	<u>5047</u>
Tabla 12. Resultados de la prueba de idoneidad del sistema y especificidad.....	<u>5350</u>
Tabla 13. Datos obtenidos y resultados para la prueba de precisión del método y sistema	<u>5451</u>
Tabla 14. Datos recopilados y resultados de la prueba de exactitud	<u>5552</u>
Tabla 15. Datos recopilados y resultados de linealidad e intervalo del método y del sistema	<u>5653</u>
Tabla 16 y 17. Datos recopilados y resultados de la prueba de robustez.....	<u>5754</u>
Tabla 18. Criterios de aceptación de la validación del método analítico.....	<u>5956</u>
Anexo 1. Bitácora semanal de las actividades realizadas durante el internado en Laboratorios Zepol S.A. en el segundo semestre del 2023	<u>6966</u>

Anexo 2. Información referencial de la materia prima de CBD utilizada para el Trabajo Final de Graduación.	8380
Anexo 3. Especificaciones de calidad para CBD materia prima	8481

V. Lista de figuras.

Figura 1. Estructura química del CBD (Cannabidiol), metabolito secundario de <i>Cannabis Sativa L.</i>	<u>2625</u>
Figura 2. Estructura química del THC (Tetrahydrocannabinol), metabolito secundario de <i>Cannabis Sativa L.</i>	<u>2726</u>
Figura 3. Diagrama de flujo representativo del método a utilizar	<u>3533</u>
Figura 4. Organigrama de las partes involucradas de Laboratorios Zepol S.A en el Trabajo Final de Graduación.....	<u>3937</u>
Figura 5. Evidencia del pico y tiempo de retención generado placebo utilizado como solvente (1, Frente solvente (metanol), 2, estándar interno de anetol)	<u>5148</u>
Figura 6. Evidencia del pico y tiempo de retención generado de la inyección de CBD estándar (1, frente solvente, 2, anetol, 3, CBD).....	<u>5148</u>
Figura 7. Evidencia del pico y tiempo de retención generado de la inyección de CBD estándar (1, frente solvente, 2, anetol, 3, THC)	<u>5249</u>
Figura 8. Evidencia de la idoneidad del sistema planteado en la validación del método analítico (1, frente solvente, 2, anetol, 3, CBD y 4 THC)	<u>5249</u>
Figura 9. Evidencia del comportamiento del área generado del pico con respecto a la concentración de CBD estándar.....	<u>5754</u>
Anexo 4. Portada del certificado de análisis del estándar primario de CBD utilizado en el proceso de validación del método analítico	<u>8582</u>
Anexo 5. Información de la columna cromatográfica utilizada y su respectivo certificado e análisis	<u>8683</u>
Anexo 6. Reporte de Análisis de la idoneidad del sistema cromatográfico planteado.....	<u>8784</u>
Anexo 8. Evidencia de las hojas de cálculo utilizada para recopilar todos los resultados del proceso de validación del método.....	<u>9087</u>
Anexo 9. Portada del protocolo de validación del método analítico planteado	<u>108105</u>
Anexo 10. Portada del Reporte de validación del método analítico planteado	<u>109106</u>

VI. Abreviaturas.

Tabla 1. Recopilación de abreviaturas utilizadas en el Trabajo Final de Graduación y sus significados.

ABREVIATURA	SIGNIFICADO
CBD	Cannabidiol
FDA	Food and Drug Administration (Administración de alimentos y medicamentos)
HPLC	High-Performance Liquid Chromatography (Cromatografía líquida de Alta Resolución)
IR	Infrarrojo
MINSA	Ministerio de Salud de Costa Rica
NLT	Not less than (no menos que)
NMT	Not more than (no más que)
SOP	Standard Operating Procedure (Procedimientos Operativos estándar)
THC	Tetrahidrocannabinol
TFG	Trabajo Final de Graduación
UNODC	United Nations Office on Drugs and Crime (Oficina de las Naciones Unidas contra la Droga y el Delito)
UV-Vis	Ultravioleta- Visible

Fuente: Elaboración propia.

CAPÍTULO I – INTRODUCCIÓN

1.1. Introducción.

Cannabis sativa es una planta que en los últimos años ha tomado un papel protagonista en estudios clínicos y procesos de investigación y desarrollo de nuevos productos farmacéuticos por su extracto natural. Dicho extracto contiene más de 80 metabolitos secundarios, conocidos como cannabinoides, donde las sustancias bioactivas con mayor concentración son el CBD y THC¹.

Por un lado, el tetrahidrocannabinol, conocido por su abreviatura THC, es el componente del extracto de *Cannabis* que tiene actividad psicótica y, por otro lado, el CBD (cannabidiol) es el metabolito secundario que se ha estado estudiando en los últimos años por su actividad terapéutica, ya que, según diversos estudios, tiene actividad analgésica, antiinflamatoria, anticonvulsiva, entre otros².

Esta creciente investigación anteriormente comentada ha producido un aumento en el interés de las casas industriales farmacéuticas en el estudio y utilización de CBD como principio activo de un posible medicamento viable, pero, en la actualidad, solamente se encuentra en el mercado mundial un medicamento, conocido como Epidiolex^{3,4}. Dicho producto es el único fármaco con CBD aprobado por la FDA, como fármaco huérfano, pues los medicamentos que tengan como principio activo el CBD no se están registrando bajo la regulación de la FDA por cuestiones regulatorias^{3,4}.

El Epidiolex es un fármaco de Cannabidiol que fue fabricado por GW Pharmaceuticals, que está indicado para el tratamiento de convulsiones relacionadas con epilepsias por síndrome de Lennox-Gastaut y Síndrome de Dravet. Dicho medicamento fue finalmente aprobado por la FDA en el 2018 y es el primer producto farmacológico en el mercado y único, por el momento, que contiene CBD como principio activo^{3,4}.

Por lo consiguiente, los productos que actualmente están en el mercado que tienen CBD, son productos que se registran bajo el nombre de cosméticos o suplementos alimenticios ya que, como medicamento, no se pueden registrar por un vacío en cuanto a

regulaciones políticas y especificaciones en estudios clínicos que aún se tienen que desarrollar y validar³. Por lo mismo, la FDA aprobó por ahora el Epidiolex ya que, según Gottlieb, comisionado de dicho ente regulatorio:

Esta aprobación es un recordatorio de que el impulsar programas de desarrollo sensatos que evalúan correctamente los ingredientes activos en la marihuana puede llevar a descubrir tratamientos médicos importantes. La FDA está comprometida con este tipo de investigación científica y desarrollo de medicamentos de manera rigurosa [...]. Ensayos clínicos controlados para evaluar la seguridad y la eficacia de un medicamento, junto con una revisión detenida mediante el proceso de aprobación de medicamentos de la FDA, es la manera más adecuada para desarrollar tratamientos derivados de la marihuana para los pacientes [...]⁴.

Por otro lado, en Costa Rica, el Ministerio de Salud, ente regulatorio cuando a medicamentos se refiere, funciona de la misma manera que la FDA en el proceso de registro de productos con CBD, basándose meramente en cosméticos y suplementos alimenticios, por el momento⁵. Además de esto, las personas interesadas en la utilización de CBD en sus productos requieren una “autorización previa mediante la obtención del respectivo título habilitante otorgado por la autoridad competente, de conformidad con la ley”⁵.

Ahora bien, al tener una idea de la importancia de la legislación del CBD; la formulación, manufactura y control de calidad de un producto, específicamente un fármaco, requiere de un procedimiento o metodología para que todo el proceso del producto sea elaborado de forma eficiente, ordenado y simplificado. La metodología analítica en la industria farmacéutica busca dar con un procedimiento que mantenga y procure la calidad de los fármacos desde su manufactura, hasta su liberación al mercado⁶.

En caso de materias primas, principalmente las que tengan alguna bioactividad, deben de tener una metodología de identificación y cuantificación, en el caso de la identificación meramente para corroborar que la materia prima sea la etiquetada en el producto y evidenciar

que el producto tiene o no impurezas y, por otro lado, la cuantificación, para corroborar que la materia prima tenga el porcentaje de pureza etiquetado en el producto.

Dichos métodos analíticos deben de pasar por un proceso de validación, el cual se entiende como un procedimiento que establece pruebas “documentales que demuestran científicamente que un método de análisis tiene las características de desempeño que son adecuadas para cumplir los requerimientos de las aplicaciones analíticas pretendidas”⁶. De forma resumida, respaldar que la metodología sea exacta, precisa, específica, lineal, tenga un intervalo, límite de cuantificación y límite de detección, para que, sin importar quien esté en control del proceso, los resultados sean verídicos⁶.

Por ende, teniendo en cuenta el crecimiento del impacto del CBD en la medicina moderna y que la formulación de productos farmacéuticos, cosméticos y suplementos alimenticios requieren una metodología de análisis validada, en el siguiente trabajo de investigación, se pretende desarrollar un método de cuantificación de CBD e identificación de THC en la materia prima de CBD, y su debida validación, para su utilización en productos fabricados por Laboratorios Zepol S.A, basándose en los SOP's internos, libros oficiales y regulaciones internacionales de la industria farmacéutica.

1.2. Justificación.

La naturaleza del presente trabajo de investigación gira en torno a la elaboración de una metodología analítica de identificación de THC en CBD materia prima, para evidenciar la presencia o no de este metabolito secundario en el producto, ya que según regulación internacional debe de estar en un porcentaje igual o menor al 0.3% (FDA) y en el caso de Costa Rica, en un porcentaje menor al 1%⁵. Por otro lado, el desarrollo de una metodología analítica de cuantificación de CBD en CBD materia prima, para corroborar que el producto tiene la pureza necesaria para su uso farmacéutico y cosmético.

Por consiguiente, al desarrollar las metodologías de cuantificación e identificación, se realizará la validación de ambos métodos, para así verificar que ambos métodos analíticos son viables y los resultados serán verídicos y confiables según el Reglamento Técnico

Centroamericano “RTCA 11.03.39:06 Productos Farmacéuticos. Reglamento de Validación de Métodos Analíticos para la Evaluación de la Calidad de los Medicamentos”⁶.

Dicha investigación es de importancia ya que beneficiará a ambas partes; tanto para el interno de la carrera de farmacia como para Laboratorios Zepol S.A. Para el interno, pues será de gran importancia en su experiencia estudiantil ser parte de uno de los tantos procesos en la elaboración de un nuevo producto innovador farmacéutico y poner en práctica todo lo aprendido a lo largo de la carrera de Farmacia y, por otro lado, para la empresa, ya que se beneficiará de una ayuda de un pasante en un proceso riguroso en el análisis de una de las materias primas que se utilizarán en la producción de nuevos productos innovadores que se están planeando y adelantando, para su futuro registro sanitario.

Laboratorios Zepol S.A. es una industria farmacéutica costarricense ubicada en Cipreses de Curridabat, San José, con alta presencia en la región centroamericana, Caribe y parte de los Estados Unidos. A lo largo de sus 73 años, desde su fundación, sigue la misión de ser gente disfrutando vida, que desarrollan productos que ayuden a los consumidores a disfrutarla de la misma manera. Además, su visión es ser una empresa R.I.C.A: rentable, innovadora, competitiva y atractiva. Es una empresa nacional de alto renombre que cuenta con certificaciones de Esencial Costa Rica, la FDA, ISO 9001, ISO 14001, entre otros⁷.

Por último, la finalidad del trabajo de investigación y su propósito inicial es el desarrollo de la metodología de análisis de cuantificación e identificación de la materia prima de CBD a utilizar en productos de Laboratorios Zepol S.A durante el segundo semestre del 2023, basándose en SOP's internos y regulaciones regionales-internaciones, para así evidenciar que los productos serán de alta calidad y seguros para su consumo.

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo General.

Desarrollar un método analítico de cuantificación de CBD e identificación de THC en CBD materia prima para su utilización en productos fabricados por Laboratorios Zepol S.A en el segundo Semestre del 2023.

1.3.2. Objetivos específicos.

1.3.2.1. Desarrollar un método analítico de cuantificación de CBD en CBD materia prima, para su utilización en productos fabricados por Laboratorios Zepol S.A, basándose en SOP´s internos, libros oficiales y regulaciones internacionales de la industria farmacéutica.

1.3.2.2. Desarrollar un método de identificación de THC en CBD materia prima, para su utilización en productos fabricados por Laboratorios Zepol S.A, basándose en SOP´s internos, libros oficiales y regulaciones internacionales de la industria farmacéutica.

1.3.2.3. Validar el método analítico de cuantificación de CBD e identificación de THC en CBD materia prima, para su utilización en productos fabricados por Laboratorios Zepol S.A, basándose en SOP´s internos, libros oficiales y regulaciones internacionales de la industria farmacéutica.

CAPITULO II - MARCO REFERENCIAL

2.1 Formulación de productos

La formulación de productos se basa en la mezcla con sentido de distintas sustancias para dar finalmente en un producto deseado. Hablándose en farmacia, la formulación es la forma mediante la cual se inicia la elaboración de medicamentos, con la mezcla, con propósito conocido, de distintos componentes naturales para proporcionar un beneficio orgánico al hombre. Actualmente, la formulación se industrializó y ahora es parte fundamental en la farmacia industrial, la cual se entiende como el estudio y diseño de una mezcla compatible de excipientes y principios activos para dar finalmente con un medicamento⁸.

2.1.1. Excipientes.

Los excipientes son sustancias que son parte de la fórmula cualitativa y cuantitativa de un producto farmacéutico y que se encargan de darle cuerpo, durabilidad, estabilidad, sabor, olor, entre otras características, al producto final, sin producir un efecto terapéutico. Prácticamente las propiedades de biodisponibilidad y estabilidad con el pasar el tiempo de un medicamento radica en una correcta elección de excipientes, basándose en incompatibilidades entre los mismos y en una debida proporción a utilizar⁹. Por lo anterior, el análisis de las materias primas involucradas en la fórmula de un producto es indispensable para respaldar la eficacia y calidad de este.

2.1.2. Principio activo

A diferencia de los excipientes que son sustancias que dan cualidades no bioactivas a la formulación farmacéutica, los principios activos son las sustancias que tienen un efecto terapéutico mediante un mecanismo de acción específico en el cuerpo. Es la materia prima más importante, ya que es la que da la cualidad de alivio, curación, diagnóstico o mejora al paciente, claro está, en una dosificación adecuada⁹. Al igual que en los excipientes, el análisis de la materia prima a utilizar como principio activo es vital para corroborar que el producto final sea seguro, eficaz y de alta calidad para el cliente.

2.2. Método analítico

El método analítico es empleado en distintas etapas de la elaboración de un producto farmacéutico, desde su diseño y desarrollo, hasta su liberación al mercado¹⁰. Se entiende como un procedimiento para evaluar distintas características de un producto final o bien, distintas materias primas utilizadas en su manufactura. Estas características suelen ser propiedades críticas en la eficacia y calidad de un producto, como las propiedades fisicoquímicas, microbiológicas, y organolépticas¹⁰.

En la formulación de un producto se requiere de la ejecución de un método analítico validado, por ejemplo, las materias primas antes de ser usadas se deben de analizar para que se cuantifique la potencia de esta, visualizar la presencia de partículas extrañas, humedad, impurezas o contaminantes, entre otros. Por otro lado, un producto final requiere de un método analítico de control de calidad validado para corroborar que el lote producido cumple con las especificaciones físicas, químicas, organolépticas, entre otras.

2.2.1. Cuantificación de sustancias

La cuantificación de una sustancia, en este caso, excipientes y principios activos de un producto farmacéutico, se basa en la determinación de la concentración de un compuesto químico en una disolución a partir de una técnica analítica¹⁰. La técnica analítica para utilizar dependerá del método analítico validado a ejecutar y las herramientas que el laboratorio farmacéutico tenga a disposición. Dos de las técnicas analíticas más utilizadas para cuantificación e identificación de un compuesto son la espectrofotometría y la Cromatografía Líquida de Alta Resolución¹⁰.

2.2.1.1. Cromatografía Líquida de Alta Resolución.

La Cromatografía Líquida de Alta Resolución, o también conocida como HPLC por sus siglas en inglés, es una técnica analítica de separación de componentes de una mezcla homogénea a partir de una migración diferencial en un sistema compuesto por la fase móvil

y la fase estacionaria^{10, 11}. La fase móvil consta de un líquido que viaja a través de la fase estacionaria y va transportando la muestra. La fase estacionaria es una fase fija donde la muestra fluye ya va reteniendo las sustancias que son afines a la misma, donde las partículas que se retienen más son compuestos afines a la fase estacionaria y las que no se retienen, son afines a la fase móvil.

Por ejemplo, un HPLC de fase inversa consiste en una fase móvil polar y una fase móvil apolar donde las sustancias polares tienen un tiempo de retención menor y las sustancias no polares, tendrán un tiempo de retención mayor^{10, 11}. Al final del recorrido de la fase móvil hay un detector, usualmente un espectrofotómetro, que brindará una señal en la computadora, conocido como pico cromatográfico. A partir de un pico de una muestra, se logra sacar el área de este y si se compara con un área de un estándar con concentración conocida, se logra cuantificar la concentración de la muestra^{10, 11}.

2.2.1.2. Espectrofotometría

La espectrofotometría es una técnica analítica utilizada para medir cuanta luz absorbe un compuesto químico¹². Su fundamento se basa en que las moléculas tienen la capacidad de absorber radiaciones, entre ellas, las radiaciones dentro del espectro UV-vis, IR, entre otros. La absorbancia, la cual se entiende como la cantidad de luz absorbida por una solución, es directamente proporcional a la concentración de la misma disolución, basándose en la Ley de Lambert- Beer¹².

Usando una longitud de onda donde una sustancia “X” tenga una absorbancia adecuada (determinado por un barrido de longitudes de onda) y teniendo en cuenta la absorbancia de una solución estándar de referencia con concentración conocida, se puede cuantificar la concentración de dicha sustancia “X”, utilizando una linealidad de distintos datos de concentración y Absorbancia de alícuotas del estándar.

2.2.2. Identificación de sustancias

La identificación de una sustancia es el reconocimiento de la existencia de una sustancia química en una mezcla dada, utilizando alguna técnica analítica. En los laboratorios

de control de calidad, se suelen seguir métodos analíticos de identificación de sustancias utilizando técnicas como la espectrofotometría infrarroja y el HPLC.

En la espectrofotometría IR lo que ocurre es una interacción de absorción, emisión o reflexión de la radiación infrarroja en las moléculas^{10, 13}. Estos cambios son detectados y visualizados en una computadora como un espectro representado en un gráfico. Al analizar el espectro, tomando en cuenta los espectros específicos de los grupos funcionales involucrados, se pueden comparar y dar con una idea de la estructura química de la sustancia^{10, 13}.

Por otro lado, la técnica de HPLC, la cual utiliza Laboratorios Zepol S.A, sigue la idea de la comparación del tiempo de retención de la muestra con el tiempo de retención de la solución estándar, siempre y cuando los tiempos de retención de los componentes de la mezcla no sean muy cercanos, pues podría ocasionar una interferencia en los picos de la cromatografía^{10, 14}. Siguiendo esto, se podría decir que si un componente de una mezcla tiene un pico a un tiempo de retención “X”, y el estándar tiene un pico en ese mismo tiempo de retención, son el mismo compuesto^{10, 14}.

2.3. Validación de métodos analíticos

La validación de un método analítico se refiere al proceso mediante el cual se establece, a través de estudios de laboratorio, que el rendimiento de la metodología cumple con los requisitos para las aplicaciones analíticas previstas¹⁵. Las características para evaluar van a depender del tipo de método analítico a utilizar, donde dichas características son:

2.3.1. Exactitud.

La exactitud se entiende e interpreta como la cercanía de los resultados obtenidos de la prueba al valor real estándar¹⁵. Dicha exactitud se debe de determinar a través de su rango de aplicación.

2.3.2. Precisión

Se refiere al grado de concordancia entre los resultados obtenidos de las pruebas individuales cuando el método es aplicado de forma repetitiva¹⁵. Un ejemplo sería en el caso de métodos analíticos donde se daba de analizar varias muestras o réplicas.

2.3.3. Especificidad

Se trata de la capacidad que tiene un método analítico para evaluar inequívocamente el analito en presencia de componentes que se esperan que se estén presentes¹⁵. Por ejemplo, cuando se desea cuantificar o identificar un principio activo en una muestra que contiene también distintos excipientes.

2.3.4. Límite de detección

Es la característica en un proceso de validación que se refiere a la cantidad mínima de analito que se puede detectar, pero no necesariamente cuantificar¹⁵.

2.3.5. Límite de cuantificación.

Se entiende como la cantidad o concentración mínima necesaria de analito para poder cuantificarse con una exactitud y precisión aceptable¹⁵.

2.3.6. Linealidad.

Capacidad de un método analítico de generar resultados directamente proporcionales a la concentración del analito, utilizando muestras dentro del rango aceptable del método¹⁵. Es común visualizar esta característica en métodos de cuantificación de alguna sustancia.

2.3.7. Rango.

El rango o intervalo se define como el espacio entre los niveles superior e inferior del analito que producen una precisión, exactitud y linealidad adecuadas¹⁵. Por ejemplo, los

métodos de cuantificación basados en espectrofotometría UV-Vis suelen tener un rango establecido de concentración de muestra para poder cumplir con la linealidad y no obtener resultados no deseados.

2.3.8. Robustez.

Es una medida de la capacidad del método de no sufrir variaciones o interferencias por causas pequeñas, pero deliberadas en los parámetros del procedimiento¹⁵.

2.4. Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 11.03.39:06 Productos Farmacéuticos. Reglamento de Validación de Métodos Analíticos para la Evaluación de la Calidad de los Medicamentos.

Dicho Reglamento Técnico Centroamericano tiene como objetivo el establecer las directrices para validar métodos analíticos fisicoquímicos y microbiológicos en el control de calidad de medicamentos⁶. Dichas directrices deben ser aplicadas a todos los métodos de análisis no oficiales y oficiales utilizados para el control de calidad de medicamentos con el objetivo de cumplir las normativas vigentes de buenas prácticas de laboratorio y buenas prácticas de manufactura⁶.

En el punto número 4 de dicho reglamento, se enlistan las categorías de los métodos que deben de validarse donde, en lo que compete el presente trabajo, la cuantificación de alguna sustancia entra en la categoría I y la identificación de un compuesto se clasifica en la categoría IV⁶.

2.4.1. Validación de un método analítico de cuantificación.

Como se expresó anteriormente, los métodos analíticos de cuantificación de sustancias se engloban, según el RTCA, en la categoría I⁶. En la tabla 1 de dicho reglamento se evidencian que parámetros de desempeño requieren estos métodos analíticos para lograr ser validados, donde, en el caso de la cuantificación, requieren exactitud, precisión, especificidad, linealidad e intervalo⁶.

Tabla 2. Parámetros de desempeño de los procedimientos analíticos fisicoquímicos y potencia microbiológica.

Categoría de prueba	Categoría I	Categoría II		Categoría III	Categoría IV
Parámetro de desempeño	Principios activos Cuantificación	Prueba límite cuantitativa	Prueba límite cualitativa	Fisicoquímico de desempeño	Identificación
Exactitud	SÍ	SÍ	*	*	NO
Precisión	SÍ	SÍ	NO	SÍ	NO
Especificidad	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ
Límite de detección	NO	NO	SÍ	*	NO
Límite de cuantificación	NO	SÍ	NO	*	NO
Linealidad	SÍ	SÍ	NO	*	NO
Intervalo	SÍ	SÍ	*	*	NO

* Puede requerirse dependiendo de la naturaleza del ensayo

Fuente: Elaboración propia basado en el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 11.03.39:06 Productos Farmacéuticos. Reglamento de Validación de Métodos Analíticos para la Evaluación de la Calidad de los Medicamentos⁶.

2.4.2. Validación de un método analítico de identificación.

Ahora bien, los métodos de identificación requieren, según la tabla 1 del RTCA de validación de métodos analíticos, cumplir solamente con el parámetro de desempeño llamado especificidad (ver tabla 2)⁶.

2.5. *Cannabis sativa L.*

La planta *Cannabis sativa L* es una de las plantas cultivadas más antiguas del mundo, recopilando información sobre su cosecha y cultivo desde hace 5000-6000 años^{16, 17}. Inicialmente su uso se enfocaba meramente por su uso textil en el imperio egipcio y en Asia occidental, pero, con el pasar de los años, su exportación aumentó llegando a ser cultivado en el continente americano por ahí de los años 1600^{16,17}. Seguidamente, se evidenció en Oriente medio y Asia su uso medicinal en el siglo XIX, utilizado para el tratamiento del dolor, glaucoma, náuseas, depresión y neuralgias^{16, 17}.

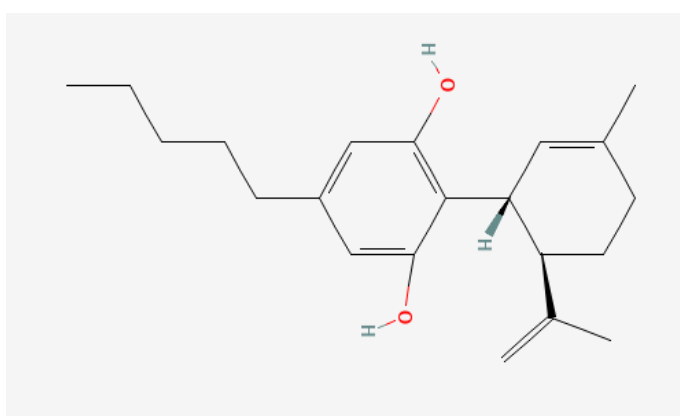
2.5.1 Cannabidiol

El cannabidiol y su forma ácida (ácido canabidiólico) son los metabolitos no psicotrópicos en mayor proporción en la fibra de *C. sativa*¹⁶. Fue una de las primeras sustancias bioactivas que se logró aislar y purificar de dicha especie en los primeros años de la década de los 40¹⁶. Pero, no fue hasta la década de los 80 que por estudios clínicos se evidenció la presencia en el cuerpo humano de un sistema de receptores de endocannabinoides (sustancias derivadas del ácido araquidónico) en el sistema nervioso central y periférico y, por tanto, se da la bioactividad de los distintos fitocannabinoides en el organismo¹⁷.

Por dicha razón, en los últimos años se incentivó la investigación clínica en la utilización de Cannabidiol, ya que produce un efecto positivo en el organismo, sin tener un efecto adverso psicótico¹⁷. Por ejemplo, se ha logrado especificar el mecanismo de acción del CBD para tratar la epilepsia, la cual se basa en la interacción de dicho metabolito con canales de Ca²⁺, receptores de serotonina, GABA, FAAH, entre otros¹⁸.

Por otro lado, su mecanismo de acción para el tratamiento del dolor severo depende de la ruta de administración. A pesar de no ser tan conocido su mecanismo de acción completo, se sabe que el CBD se comporta como un antagonista no competitivo de receptores CB₁ y CB₂ del sistema nervioso central, particularmente en el cerebro medio y médula espinal, regiones involucradas en la percepción y comunicación de la sensación del dolor¹⁹.

Figura 1. Estructura química del CBD (Cannabidiol), metabolito secundario de *Cannabis Sativa L.*



Fuente: Tomado de la referencia²⁰.

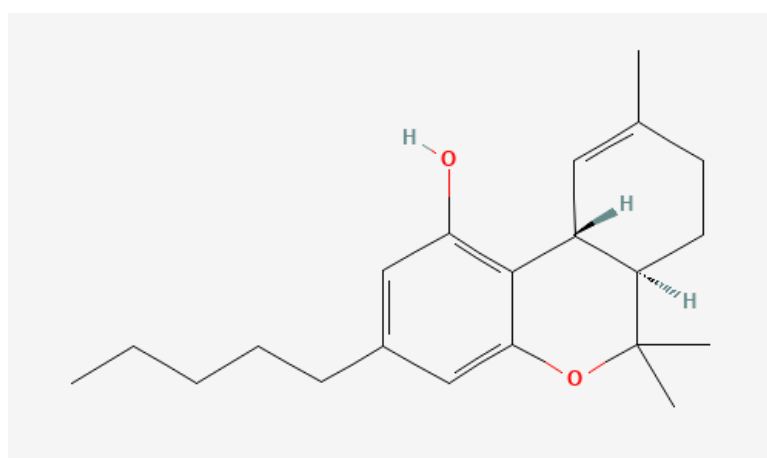
2.5.2. Tetrahidrocannabinol

En sí se habla de tetrahidrocannabinol, pero realmente los extractos de *Cannabis sativa* cuentan con una mezcla de THC con distintos estereoisómeros de la estructura química base¹⁶. A diferencia del Cannabidiol, el THC se logró aislar y purificar hasta los últimos años de la década de los 60¹⁶.

La bioactividad del THC depende de la dosificación y la personalidad y comportamiento individual, pero, en términos generales, su interacción con los receptores CB₁, principalmente, produce ansiedad, euforia, relajación, alucinaciones, alteración de la percepción de los sentidos, alteración de la percepción del correr del tiempo, entre otros²¹. Se considera que, para dar con estos efectos psicóticos, no se requiere una dosis equivalente a la de CBD, con dosis menores se ven marcados²¹.

El tetrahidrocanabinol tiene un espectro de bioactividad muy amplio que solamente se ha relacionado con su efecto psicótico, pero, el THC no es dañino del todo, terapéuticamente hablando, ya que muchos estudios preclínicos en animales han evidenciado que la utilización de THC en microdosis promueve la neuroprotección y funcionamiento neuronal²².

Figura 2. Estructura química del THC (Tetrahydrocannabinol), metabolito secundario de *Cannabis Sativa L.*



Fuente: Tomado de la referencia²³.

CAPITULO III - MARCO METODOLÓGICO

3. Marco Metodológico

En este apartado, se describe la estrategia utilizada para desarrollar el problema durante todo el proceso del internado, de acuerdo con los objetivos propuestos en el Capítulo I. Por lo anterior, se desea plantear el enfoque y técnicas a implementar de acuerdo con las técnicas metodológicas que se consideran apropiadas para la naturaleza de esta investigación, según referencias brindadas por la universidad para la confección de la ruta metodológica. Esto tomando en cuenta que el trabajo envuelve la elaboración y validación de dos métodos analíticos para su uso en Laboratorios Zepol S.A.

3.1. Especificación operacional de las actividades a realizar

Laboratorios Zepol es una industria farmacéutica y cosmética que se dedica a la producción, manufactura de productos de empresas externas y exportación de sus productos a lo largo de Centroamérica y Norteamérica; en el cual se está brindando apoyo en tareas cotidianas a los departamentos de servicios técnicos e investigación y desarrollo.

Sumado a lo anterior, en la presente etapa de internado, se desarrollará un método analítico de cuantificación de CBD e identificación de THC en CBD materia prima y su respectiva validación. Esto con el fin de dejar una metodología de análisis de CBD materia prima validada para respaldar la utilización de CBD de alta calidad y pureza y que la empresa pueda manufacturar productos que contengan cannabidiol en un futuro a mediano plazo. Para lograr solventar el problema anteriormente detallado, se cuenta con la asesoría continua del tutor Ronald Martinez Dormond, coordinador de Servicios Técnicos y Asdrúbal Ruíz Rodríguez, jefe del departamento de Control de Calidad.

Tabla 3. Descripción de las actividades realizadas en el desarrollo del Trabajo Final de Graduación, según el rol de cada participante

Participante	Actividades
	- Encargado de la aprobación del método analítico desarrollado, protocolo de

Director Técnico	validación del método analítico, plan de ejecución de la validación y el reporte de este.
Tutor profesional y coordinador de Servicios Técnicos	<ul style="list-style-type: none"> - Encargado de evaluar el rendimiento del interno universitario a lo largo de la estancia de este en la empresa. - Es uno de los revisores del método analítico y el protocolo de validación del método analítico. - Encargado de la revisión, recomendación y retroalimentación de los avances elaborados por el estudiante, antes de enviar este a la universidad.
Jefe de Control de Calidad	<ul style="list-style-type: none"> - Encargado en el asesoramiento al interno universitario en el proceso de la elaboración del método analítico y protocolo de validación. - Es uno de los revisores del método analítico y el protocolo de validación del método analítico.
Asesor de compras	<ul style="list-style-type: none"> - Cotizar los estándares primarios de compuestos químicos a utilizar en el proceso de la elaboración del método analítico como su respectiva validación.
Universidad	<ul style="list-style-type: none"> - Encargado de brindar asesoramientos, recomendaciones y retroalimentaciones al interno universitario con respecto al desarrollo del TFG.
Interno Universitario	<ul style="list-style-type: none"> - Involucrado directo en la confección del TFG

	<ul style="list-style-type: none"> - Planifica las actividades a realizar referentes al TFG en el cronograma. - Responsable del estudio de reglamentación regional, internacional e interna que es necesaria para la elaboración del TFG. - Elabora el método analítico de CBD y THC. - Encargado de desarrollar el protocolo de validación de métodos analíticos, su ejecución y reporte de resultados. - Entregar los avances requeridos del TFG en las fechas establecidas por la Universidad. - Tras recibir alguna retroalimentación por parte del tutor, jefe de control de calidad o comité de la universidad encargado del TFG, se responsabiliza a corregir el trabajo.
--	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Fuente: Elaboración propia

3.2. Métodos y técnicas por utilizar.

3.2.1. Tipo de estudio

3.2.1.1. Según el propósito.

El presente trabajo final de graduación se clasifica en un proyecto de tipo investigación institucional, ya que se pretende responder y solucionar una necesidad o problema presente en una institución²⁴. Esto porque Laboratorios Zepol S.A requiere la elaboración de un método analítico que logre cuantificar CBD e identificar el THC, mínimo

establecido por ley, en CBD materia prima para poder manufacturar en un futuro a mediano plazo, nuevos productos con CBD en su formulación.

Solucionando esta necesidad de la empresa, se requiere elaborar un método analítico para poder ser aplicado en el laboratorio de control de calidad en análisis de toda materia prima de CBD que ingresa a Laboratorios Zepol S.A. Al tener ya el método analítico planteado, se requiere de su respectiva validación para así evidenciar que dicho método es reproducible y eficaz, según los lineamientos del RTCA de validación de métodos analíticos⁶.

Inicialmente, se desarrolla un método analítico con respecto al CBD materia prima y los equipos y materiales disponibles en el laboratorio de control de calidad de la empresa, indicando todo lo necesario, cálculos a aplicar, documentación necesaria, entre otros.

Al tener un método analítico pensado, se va desarrollando el protocolo de validación del método analítico, basándose en la metodología primeramente planteada. Mientras se redacta lo anteriormente comentado, se irá cotizando los estándares primarios a utilizar al aplicar el plan de ejecución del protocolo, todo esto en un trabajo conjunto con la asistente de compras. Posteriormente, luego de haberse revisado y aprobado el protocolo de validación y tener los estándares primarios a utilizar en la empresa, se procederá en el desarrollo del plan de ejecución del protocolo.

Finalmente, tras haber concluido el plan de ejecución y ser revisado y aprobado, se procede a redactar el reporte de resultados del proceso concluyendo si la validación cumple o no con todos los criterios de aceptación necesarios para evidenciar que el método analítico planteado está validado. Todo lo anterior se tomará en cuenta en la redacción del Capítulo IV del presente Trabajo Final de Graduación.

3.2.1.2. Según el método de investigación.

Tomando en cuenta el método a realizar, el presente trabajo se podría clasificar como un método inductivo, pues se arranca de una premisa individual, conocimientos y datos recopilados para dar con una conclusión general al problema²⁴. En este caso, se toma en

cuenta la manipulación de datos experimentales para concluir con una cuantificación e identificación de las sustancias estudiadas y evidenciar la validación de dicho método.

3.2.1.3. Según técnicas de investigación.

Para este apartado, se debe de describir el presente trabajo como una investigación conjunta, ya que se estudia tanto información cualitativa como cuantitativa²⁴. En el caso de información cualitativa, toda aquella información teórica necesaria para el entendimiento del trabajo a realizar y todo lo que este engloba, y la información cuantitativa, que en este caso son los datos experimentales obtenidos tanto en la aplicación del método analítico planteado, como en cada uno de los datos necesarios para evidenciar que el plan de ejecución cumple con todas las especificaciones de todas las pruebas a evaluar en el proceso de validación.

3.2.1.4. Según el lugar de la investigación

Al ser un trabajo relacionado con control de calidad de materias primas, se considera oportuno catalogar el presente proyecto como una investigación de laboratorio, ya que, se sabe que se debe de ejecutar tanto el método analítico como su respectiva validación en condiciones preestablecidas y en una instalación netamente para la ejecución de procesos de control de calidad²⁴. Importante recalcar la importancia en este tipo de investigación con respecto al cumplimiento adecuado del procedimiento de la metodología y el buen uso de los instrumentos necesarios²⁴.

3.2.1.5. Según la relación al tiempo

En este caso, el presente trabajo se clasificaría como un estudio prospectivo ya que involucra información de datos experimentales según va progresando la elaboración del método analítico y la validación de este²⁴. En sí, se podría decir que todo el trabajo apunta hacia el futuro, pues es un método analítico nuevo de la empresa, con una materia prima nueva por incluir para la formulación de nuevos productos.

3.2.1.6. Según la secuencia del estudio

Tomando en cuenta que el trabajo gira en torno a la elaboración de un método analítico de cuantificación de CBD e identificación de THC en materia prima de CBD, se podría afirmar que la secuencia del estudio es transversal, ya que se analiza las distintas variables (relacionadas a cada sustancia química) en un tiempo determinado²⁴, en este caso en el momento de la aplicación del método y la ejecución de todas las pruebas a cumplir para poder validar dicho método.

3.2.1.7 Según la relación con el problema

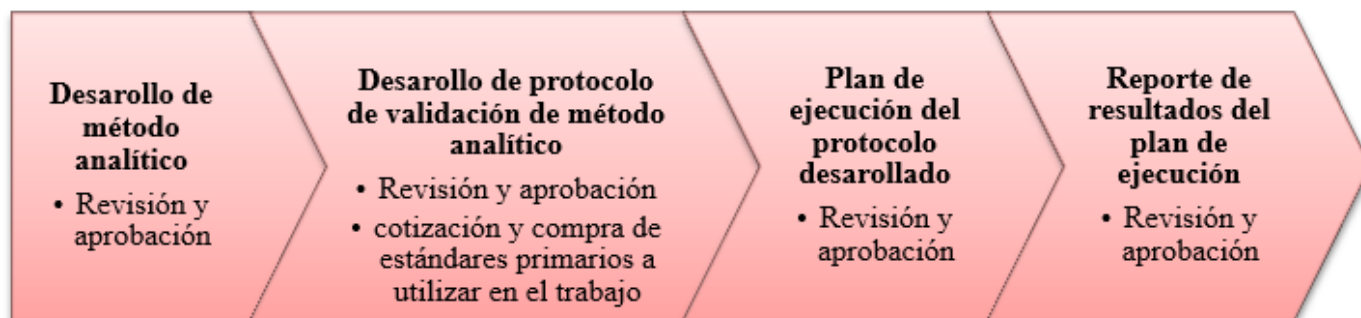
Con respecto a la relación con el problema, el presente trabajo es un estudio analítico ya que se desea dar respuesta al problema a partir de evidencia científica y matemática. En este caso, se desea dar con un método analítico aplicable con los resultados obtenidos del procedimiento de este y que dicho método sea validado a partir del cumplimiento de los criterios de aceptación del protocolo de validación.

3.2.2 Criterios para la selección del tipo de estudio

Los tipos de estudio según propósito, método de investigación, técnicas de investigación, lugar de la investigación, relación con el tiempo, secuencia del estudio y relación con el problema se eligieron basándose en la naturaleza del problema a solventar durante los seis meses que se mantendrá en Laboratorios Zepol S.A en el presente internado.

Lo anterior recalca que el presente trabajo se considera una investigación institucional con un método inductivo, conjunto, prospectivo, transversal y analítico ejecutado en el Laboratorio de Control de Calidad de la empresa. Esto se delimita de la manera dicha anteriormente por el tipo de muestra a utilizar, tipo de muestreo, tiempo necesario para la ejecución del trabajo y los recursos a utilizar a lo largo del periodo de internado.

Figura 3. Diagrama de flujo representativo del método a utilizar



Fuente: Elaboración propia

3.2.3 Tipo de muestreo

En el caso del presente trabajo, el muestreo se va a basar en la recolección de distintas muestras de materia prima de CBD de la materia prima del almacén de Laboratorios Zepol, para así ser utilizado en la elaboración del método analítico y las pruebas a ejecutar para la validación de este. Por lo tanto, se considera oportuno clasificar el tipo de muestreo como un muestreo probabilístico ya que se desea obtener muestras representativas entre sí, para así evidenciar la reproducibilidad del método analítico²⁴. Para fines de este proyecto, se tomarán muestras de CBD materia prima siguiendo un muestreo aleatorio simple tanto para la elaboración del método analítico, como para la validación de este.

3.2.3.1. Instrumentos para la recolección de datos

Como este trabajo de investigación tiene un método de investigación conjunta, toda información cualitativa es recopilada gracias a una observación documental, ya que se respalda toda la información redactada con fuentes bibliográficas fundamentadas, como por ejemplo artículos, libros, entre otros²⁴. Para esto, se buscaron referencias primarias y secundarias con no más de cinco años desde su fecha de publicación, utilizando distintas bases de datos online, como por ejemplo SciFinder, ScienceDirect y Google scholar. Aparte a lo anterior, se utilizaron sitios web de información jurídica nacional y de entidades internacionales para respaldar reglamentaciones vigentes hoy en día.

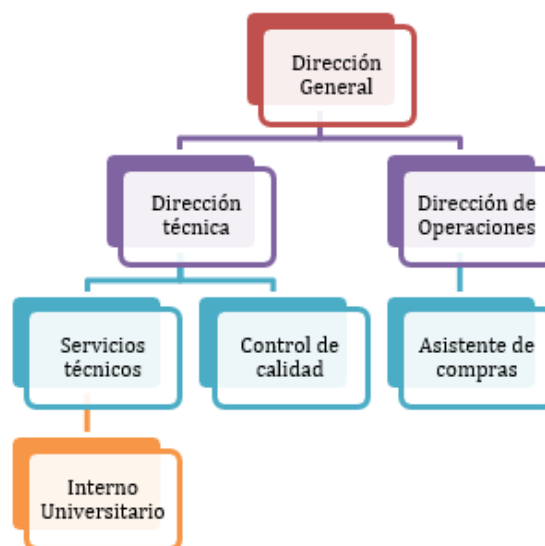
3.5. Cálculo de costos generales de ejecución.

En este caso, como el laboratorio de control de calidad de la empresa está altamente equipado y se cuentan con todos equipos y utensilios necesarios para el desarrollo del presente trabajo y que al día de inicio del internado ya la empresa contaba con estándar primario de THC, el único costo a tomar en cuenta es el precio del estándar primario de CBD a comprar.

3.6 Organigrama de las partes involucradas con el TFG

La siguiente figura recalca la organización de todos los departamentos y personal involucrados de manera directa e indirecta con el presente trabajo final de graduación.

Figura 4. Organigrama de las partes involucradas de Laboratorios Zepol S.A en el Trabajo Final de Graduación.



Fuente: Elaboración propia basado en organigrama empresarial de Laboratorios Zepol S.A.²⁵

3.7. Pre-requisitos para el logro de los efectos e impacto del proyecto

Se consideran pre-requisitos necesarios para poder desarrollar el TFG las distintas capacitaciones necesarias para el entendimiento del funcionamiento interno de la empresa,

capacitaciones de Buenas Prácticas de Laboratorio, capacitación o asesoría del uso del HPLC específico del laboratorio de Control de Calidad, tener permiso dactilar de ingreso al laboratorio, contar con todos los demás equipos, reactivos y utensilios del laboratorio y por último, tener tanto los estándares primarios de THC y CBD, como la materia prima a analizar.

CAPÍTULO IV - LOGROS Y RECOMENDACIONES

El siguiente capítulo del presente trabajo tiene como propósito brindar las respuestas a todos los objetivos específicos planteados en el Capítulo I. Cabe destacar que toda información de referencia, proveniente de la empresa, será redactada basándose en documentación y metodologías internas de Laboratorios Zepol S.A, debidamente validadas.

4.1. Logros del proceso

4.1.1. Desarrollar un método analítico de cuantificación de CBD en CBD materia prima, para su utilización en productos fabricados por Laboratorios Zepol S.A, basándose en SOP's internos, libros oficiales y regulaciones internacionales de la industria farmacéutica.

4.1.1.1. Materiales y equipos: El presente método analítico de cuantificación de CBD en CBD materia prima requiere de los siguientes reactivos y equipos:

Tabla 5. Materiales y equipos requeridos para la valoración de CBD en CBD materia prima

REACTIVOS
Muestra de CBD materia prima
CBD PhytoLab estándar
Anetol estándar USP
Acetonitrilo calidad HPLC Supelco
Agua calidad HPLC
Metanol Sigma-Aldrich
Solución diluida de HCl
EQUIPOS Y MATERIALES
HPLC Shimadzu
Columna C8 (4,6 mm x 250 mm x 5 µm) KNAUER
Aguja para HPLC
Balanza analítica
Balones aforados de 50 mL

Pipeta de 5 mL

Fuente: Elaboración propia basado en método analítico interno de Laboratorios Zepol S.A y referencias²⁶⁻³¹

4.1.1.2.Seguridad: se debe de cumplir con la vestimenta requerida para ingresar a un Laboratorio de Control de Calidad farmacéutico según parámetros de Buenas Prácticas de Laboratorio³².

4.1.1.3.Procedimiento de la elaboración del solvente: Se prepara una solución de anetol a una concentración de 0.1mg/ml en metanol. El anetol es el estándar interno del método analítico.

4.1.1.4.Procedimiento de la elaboración de la solución estándar: Pesar 25 mg de CBD estándar en un balón aforado de 50 mL, donde se disolverá y aforará a volumen con solvente (en caso necesario se puede agilizar la disolución del soluto con el baño ultrasónico). De la solución generada, tomar una alícuota de 5 mL y llevarla a un balón aforado de 50 mL y aforar con solvente (concentración final de 0.05mg/mL).

4.1.1.5.Procedimiento de la elaboración de la solución muestra: Pesar 25 mg de CBD materia prima en un balón aforado de 50 mL donde se disolverá y aforará a volumen con solvente (en caso necesario se puede agilizar la disolución del soluto con el baño ultrasónico). De la solución generada, tomar una alícuota de 5 mL y llevarla a un balón aforado de 50 mL y aforar con solvente (concentración final de 0.05mg/mL).

4.1.1.6.Procedimiento de corrida en HPLC: tras dar con las soluciones estándar y muestra, inyectar la solución estándar siguiendo los parámetros del sistema cromatográfico y visualizar el pico generado (se deben hacer cinco réplicas

de la solución estándar). Seguidamente, tras finalizar con todas las corridas utilizando la solución estándar, proceder con la corrida de la solución muestra siguiendo los parámetros del sistema cromatográfico (se deben hacer tres réplicas). Tanto la corrida de la solución estándar, como la de la solución muestra, deben tener un pico a un tiempo de retención similar para poder calcular el % de CBD de la materia prima tras obtener las áreas de dichos picos logrados.

4.1.1.7.Sistema cromatográfico: La siguiente tabla muestra los parámetros cromatográficos utilizados en el método analítico según idoneidad del sistema estudiado.

Tabla 6. Parámetros para utilizar y configurar para realizar el método analítico de cuantificación de CBD.

Sistema	HPLC
Detector	UV-Vis
Longitud de onda	220 nm
Columna	Columna C8 4,6 mm x 250 mm, 5 µm
Fase móvil	Acetonitrilo: agua acidificada pH 3 con HCl (80:20)
Flujo de la fase móvil	1.0 mL/min
Volumen de inyección	20 µL

Fuente: Elaboración propia basándose en el método analítico interno de Laboratorios Zepol S.A y referencias²⁶⁻³¹.

4.1.1.8.Cálculos

$$FD \frac{50 \text{ mL} * 50 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} = 500 \text{ mL}$$

$$[\text{Estándar}] = \frac{\text{masa estándar} * \text{potencia estándar}}{FD}$$

$$\%CBD = \frac{\text{Área muestra} * [\text{estándar}] * FD * 100}{\text{Área estándar} * \text{masa muestra}}$$

Tabla 7. Significado de las variables de la fórmula para el cálculo de % de CBD en la materia prima

PARTE DE LA ECUACION	SIGNIFICADO
Área muestra	Promedio de las tres áreas obtenidas tras las tres corridas de solución muestra en el HPLC
Área estándar	Promedio de las cinco áreas obtenidas tras las cinco corridas de la solución estándar en el HPLC
[estándar]	Concentración de la solución estándar en mg/mL
FD (factor de dilución)	500 mL
Masa estándar	Masa utilizada para la elaboración de la solución estándar
Masa muestra	Masa utilizada para la elaboración de la solución muestra
Potencia estándar	Potencia o pureza del soluto estándar

Fuente: elaboración propia basándose en el método analítico de Laboratorios Zepol S.A²⁶.

4.1.1.9.Criterio de aceptación: la potencia de CBD en la muestra debe ser NLT 98.0% y NMT 102.0%

4.1.2. Desarrollar un método de identificación de THC en CBD materia prima, para su utilización en productos fabricados por Laboratorios Zepol S.A, basándose en SOP's internos, libros oficiales y regulaciones internacionales de la industria farmacéutica.

4.1.2.1. Materiales y equipos: El presente método analítico de identificación de THC en CBD materia prima requiere de los siguientes reactivos y equipos:

Tabla 8. Materiales y equipos requeridos para la identificación de THC en CBD materia prima

REACTIVOS
Muestra de CBD materia prima
CBD PhytoLab estándar
THC estándar Supelco
Anetol Estándar USP
Acetonitrilo calidad HPLC Supelco
Agua calidad HPLC
Metanol Sigma-Aldrich
Solución diluida de HCl
EQUIPOS Y MATERIALES
HPLC Shimadzu
Columna C8 (4,6 mm x 250 mm x 5 µm) KNAUER
Aguja para HPLC
Balanza analítica
Balones aforados de 50 mL
Pipeta de 5 mL

Fuente: Elaboración propia basado en método analítico interno de Laboratorios Zepol S.A y referencias²⁶⁻³¹.

4.1.2.2.Seguridad: se debe de cumplir con la vestimenta requerida para ingresar a un Laboratorio de Control de Calidad/ farmacéutico según parámetros de Buenas Prácticas de Laboratorio³².

4.1.2.3. Procedimiento de la elaboración del solvente: Se prepara una solución de anetol a una concentración de 0.1mg/ml en metanol. El anetol es el estándar interno del método analítico.

4.1.2.4.Solución estándar madre de CBD: pesar 25 mg de CBD estándar y llevar a línea de aforo con solvente en un balón de 50 mL (concentración teórica de 0.5 mg/mL).

4.1.2.5.Procedimiento de la elaboración de la solución estándar: De la solución estándar madre de CBD tomar una alícuota de 1 mL y llevar a un balón de 10 mL (concentración final de 0.05 mg/mL). En este mismo balón de 10 mL, dar con una concentración de THC estándar de 0.05 mg/mL (en el caso del presente trabajo, se tomó una alícuota de 0.5 mL de THC estándar de concentración de 1.0 mg/mL y se llevó al balón aforado de 10 mL). Finalmente, al tener ambas sustancias en el mismo balón aforado, llevar a línea de aforo con solvente

4.1.2.6.Solución muestra madre de CBD: pesar 25 mg de CBD materia prima y llevar a línea de aforo con solvente en un balón de 50 mL (concentración teórica de 0.5 mg/mL).

4.1.2.7.Procedimiento de la elaboración de la solución muestra: De la solución muestra madre de CBD tomar una alícuota de 1 mL y llevar a un balón de 10 mL (concentración final de 0.05 mg/mL). Finalmente, llevar a línea de aforo con solvente.

4.1.2.8.Procedimiento de corrida en HPLC: tras dar con las soluciones estándar y muestra, inyectar la solución estándar siguiendo los parámetros del sistema cromatográfico y visualizar el pico generado (solo se recomienda hacer una

corrida cromatográfica, ya que es una identificación de sustancia). Seguidamente, tras finalizar con todas las corridas utilizando la solución estándar, proceder con la corrida de la solución muestra siguiendo los parámetros del sistema cromatográfico. Tanto la corrida de la solución estándar, como la de la solución muestra, deben tener un pico a un tiempo de retención similar para evidenciar la presencia de THC en ambas soluciones (la ausencia de pico en la corrida cromatográfica de la solución muestra da a entender que la muestra presenta menos de un 1% de THC).

4.1.2.9. Sistema cromatográfico: La siguiente tabla muestra los parámetros cromatográficos utilizados en el método analítico según idoneidad del sistema estudiado.

Tabla 9. Parámetros por utilizar y configurar para realizar el método analítico de identificación de THC.

Sistema	HPLC
Detector	UV-Vis
Longitud de onda	220 nm
Columna	Columna C8 4,6 mm x 250 mm, 5 µm
Fase móvil	Acetonitrilo: agua acidificada pH 3 con HCl (80:20)
Flujo de la fase móvil	1.0 mL/min
Volumen de inyección	20 µL

Fuente: Elaboración propia basándose en el método analítico interno de Laboratorios Zepol S.A y referencias²⁶⁻³¹.

4.1.2.10. Cálculos: N/A

4.1.2.11. Criterio de aceptación: El pico generado tras la corrida cromatográfica de la solución muestra, si contiene THC, debe tener un tiempo de retención que corresponda al pico generado tras la corrida cromatográfica de la solución estándar.

4.1.3. Validar el método analítico de cuantificación de CBD e identificación de THC en CBD materia prima, para su utilización en productos fabricados por Laboratorios Zepol S.A, basándose en SOP's internos, libros oficiales y regulaciones internacionales de la industria farmacéutica.

La validación de ambos métodos de análisis se desarrolló tomando en cuenta el formato interno de Laboratorios Zepol S.A y el protocolo de validación de método analítico elaborado para dicha empresa a lo largo del presente internado³³. Para fines del trabajo final de graduación, se enlistan los siguientes puntos:

4.1.3.1.Pruebas de Validación: Según el Protocolo de validación de Laboratorios Zepol S.A, el cual referencia el RTCA de validación de métodos analíticos, recalca que las pruebas de desempeño a evaluar en una validación de un método de análisis dependen de la categoría de dicho método, lo cual se visualiza en las siguientes tablas.

Tabla 10. Clasificación de las Pruebas según categoría. Anexo B del SOP-LAB-02

Validación de Métodos Analíticos

PRUEBA	No aplica	CATEGORÍA				
		I	II	III	IV	V
Identificación THC					X	
Identificación CBD					X	
Cuantificación de CBD		X				

Fuente: elaboración propia basado en el formato del Protocolo de Validación de Métodos analíticos³³

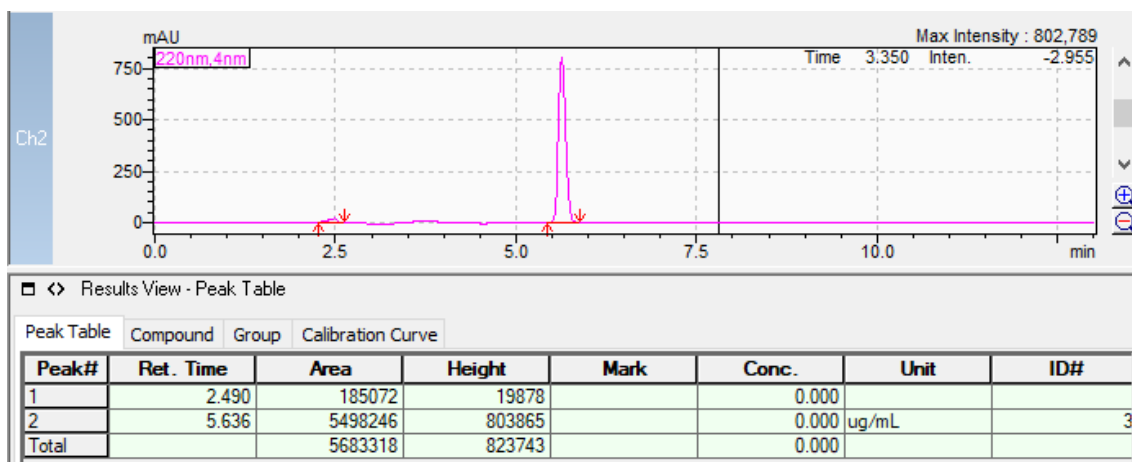
Tabla 11. Pruebas de desempeño para cada prueba de la presente validación de método analítico

PRUEBA	PRUEBAS REQUERIDAS
Identificación de THC	Identificación (especificidad)
Identificación CBD	Identificación (especificidad)
Cuantificación de CBD	Exactitud Precisión Especificidad Linealidad Intervalo Robustez

Fuente: elaboración propia basado en el formato del Protocolo de Validación de Métodos analíticos³³

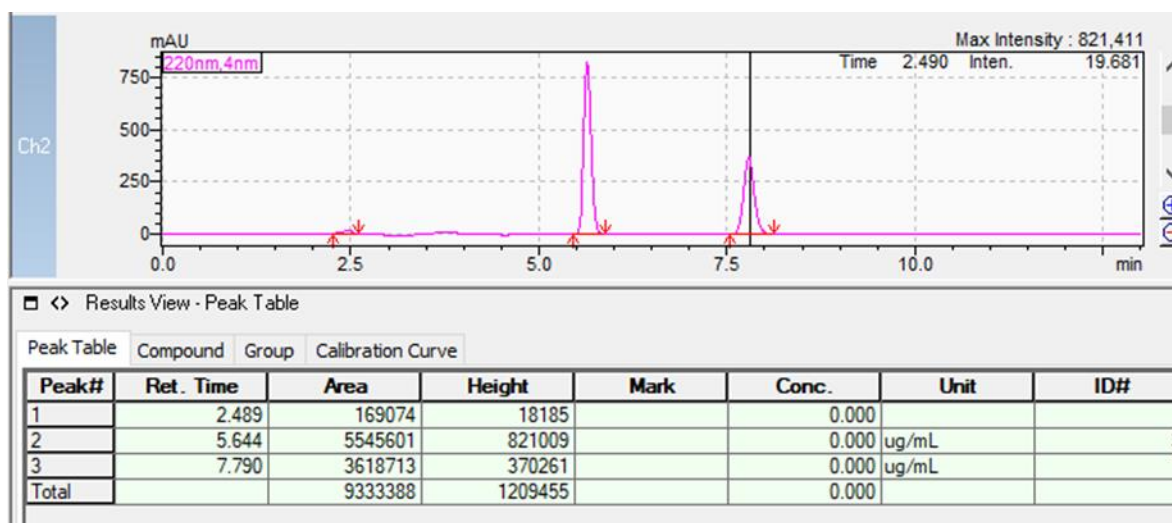
4.1.3.1.1. Idoneidad del sistema: para verificar que el sistema cromatográfico es adecuado para que se pueda lograr la señalización de CBD y THC y que sus picos tengan una adecuada resolución, se hace la idoneidad del sistema. Lo anterior se logra al comparar los picos y tiempos de retención de una corrida de placebo (metanol + anetol estándar interno), una corrida de CBD estándar, una corrida de THC estándar y por último una corrida de una solución mixta de CBD + THC estándar. Todas las soluciones inyectadas deben tener una concentración de 0.05mg/mL de analito según corresponda.

Figura 5. Evidencia del pico y tiempo de retención generado placebo utilizado como solvente (1, Frente solvente (metanol), 2, estándar interno de anetol)



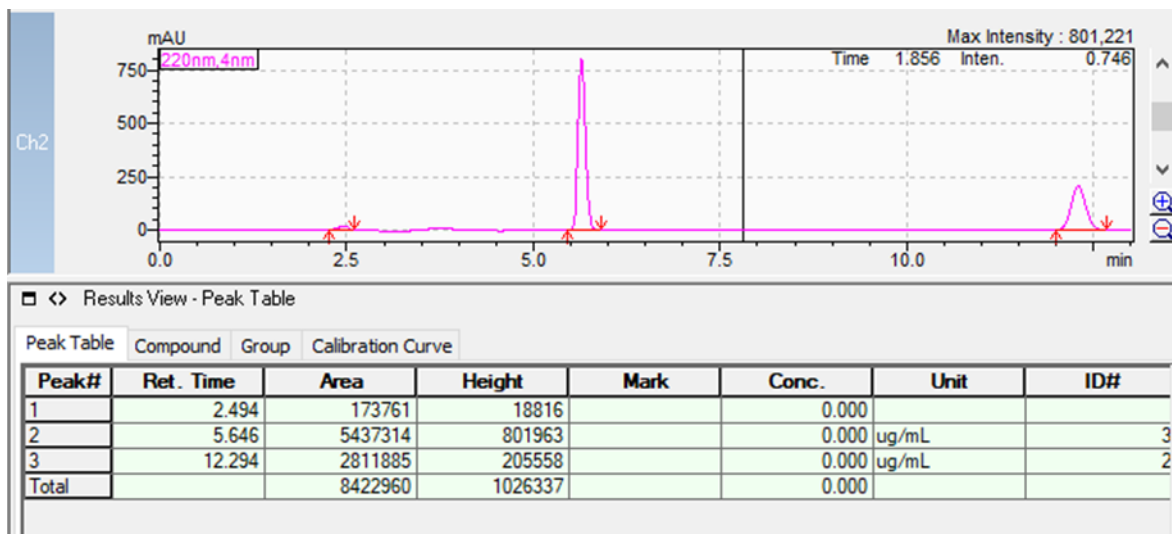
Fuente: Software LabSolutions 5.1.1.1 del equipo del Laboratorio de Control de Calidad de Laboratorios Zepol S.A.

Figura 6. Evidencia del pico y tiempo de retención generado de la inyección de CBD estándar (1, frente solvente, 2, anetol, 3, CBD)



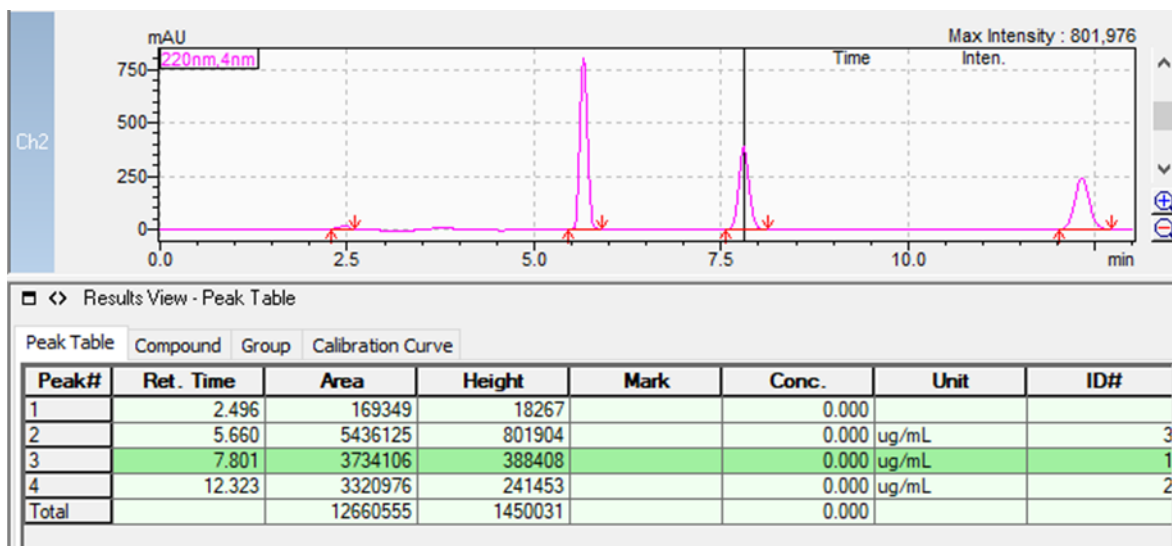
Fuente: Software LabSolutions 5.1.1.1 del equipo del Laboratorio de Control de Calidad de Laboratorios Zepol S.A.

Figura 7. Evidencia del pico y tiempo de retención generado de la inyección de CBD estándar (1, frente solvente, 2, anetol, 3, THC)



Fuente: Software LabSolutions 5.1.1.1 del equipo del Laboratorio de Control de Calidad de Laboratorios Zepol S.A.

Figura 8. Evidencia de la idoneidad del sistema planteado en la validación del método analítico (1, frente solvente, 2, anetol, 3, CBD y 4 THC)



Fuente: Software LabSolutions 5.1.1.1 del equipo del Laboratorio de Control de Calidad de Laboratorios Zepol S.A.

4.1.3.1.2. Especificidad: Se realiza una comparación del comportamiento del placebo con respecto al estándar CBD + THC. Se hace una corrida por triplicado de solución mixta al 100%. Valorándose la ausencia de analito (CBD y THC) y la presencia de este en el estándar, además que en el estándar el tiempo de retención y concentración del pico de los analitos corresponden en tiempo y magnitud con la muestra.

Tabla 12. Resultados de la prueba de idoneidad del sistema y especificidad

Solución	Tiempo de retención (min)
Placebo	2.496
Estándar interno (Anetol)	5.660
Estándar	CBD: 7.801 THC: 12.323
% interferencia del placebo en el CBD	0.0
% Interferencia del placebo en el THC	0.0
Resolución entre pico de CBD y pico de THC	9.245

Nota: valores obtenidos de la hoja de cálculo y concentraciones oficial de Laboratorios Zepol para protocolos de validación de métodos analíticos (ver Anexo 8)

Fuente: Elaboración propia basado en el formato del Protocolo de Validación de Métodos analíticos³³

4.1.3.1.3. Precisión: Esta prueba hace referencia a la calidad del método analítico de dar resultados simultáneos con variaciones mínimas entre sí. Lo anterior explica por qué es una prueba que se debe de cumplir a la hora de validar métodos analíticos sobre cuantificación de una sustancia. Por ende, se va a evaluar la precisión del método calculando la desviación estándar relativa de los datos obtenidos en las tres muestras al hacer las curvas de calibración, en las distintas concentraciones (80%, 100% y 120%) y la

precisión del sistema calculando la desviación estándar relativa de las áreas generadas de una inyección por triplicado de solución estándar al 100%.

Tabla 13. Datos obtenidos y resultados para la prueba de precisión del método y sistema

PRECISIÓN DEL MÉTODO			
% [solución]	Letra	% Recuperación	DSR (%)
80	MUESTRA		
	A	99.2	0.26
	B	98.8	
	C	98.8	
100	MUESTRA		
	A	98.2	0.46
	B	98.9	
	C	98	
120	MUESTRA		
	A	98.5	0.81
	B	100.1	
	C	99.0	
PRECISIÓN DEL SISTEMA			
% [solución]	Letra	Área	DSR (%)
100	A	0.6991	0.78
	B	0.7072	
	C	0.7095	

Nota: valores obtenidos de la hoja de cálculo y concentraciones oficial de Laboratorios Zepol para protocolos de validación de métodos analíticos (ver Anexo 8)

Fuente: elaboración propia basado en el formato del Protocolo de Validación de Métodos analíticos³³

4.1.3.1.4. Exactitud: Esta prueba es requisito en validación de un método analítico de cuantificación y se basa en hacer recuperaciones y que dichas recuperaciones se encuentren entre 98% y 102%. Como valor de referencia se utiliza la linealidad promedio de las tres curvas de calibración estándar.

Tabla 14. Datos recopilados y resultados de la prueba de exactitud

CBD			
% [solución]	Muestra	Área de pico	% de Recuperación
80	A	0.5432	99.2
	B	0.5471	98.8
	C	0.5556	98.8
100	A	0.6707	98.2
	B	0.6832	98.9
	C	0.6878	98.0
120	A	0.8066	98.5
	B	0.8291	100.1
	C	0.8328	99.0

Nota: valores obtenidos de la hoja de cálculo y concentraciones oficial de Laboratorios Zepol para protocolos de validación de métodos analíticos (ver Anexo 8)

Fuente: elaboración propia basado en el formato del Protocolo de Validación de Métodos analíticos³³

4.1.3.1.5. Linealidad e intervalo: Para la linealidad e intervalo, se debe de realizar pruebas tanto al método como al sistema. Para esto se debe:

- Inyectar soluciones al 80%, 90%, 100%, 110% y 120% del estándar (estándar A, B y C) y graficar la respuesta de la medición con respecto a la concentración del analito.

Calcular el coeficiente de correlación y valorar si cumple criterio de aceptación (en total tres curvas de calibración para linealidad e intervalo del sistema).

- Inyectar soluciones al 80%, 90%, 100%, 110% y 120% de la muestra (muestra A, B y C) y graficar la respuesta de la medición con respecto a la concentración del analito. Calcular el coeficiente de correlación y valorar si cumple criterio de aceptación (en total tres curvas de calibración para linealidad e intervalo del método).

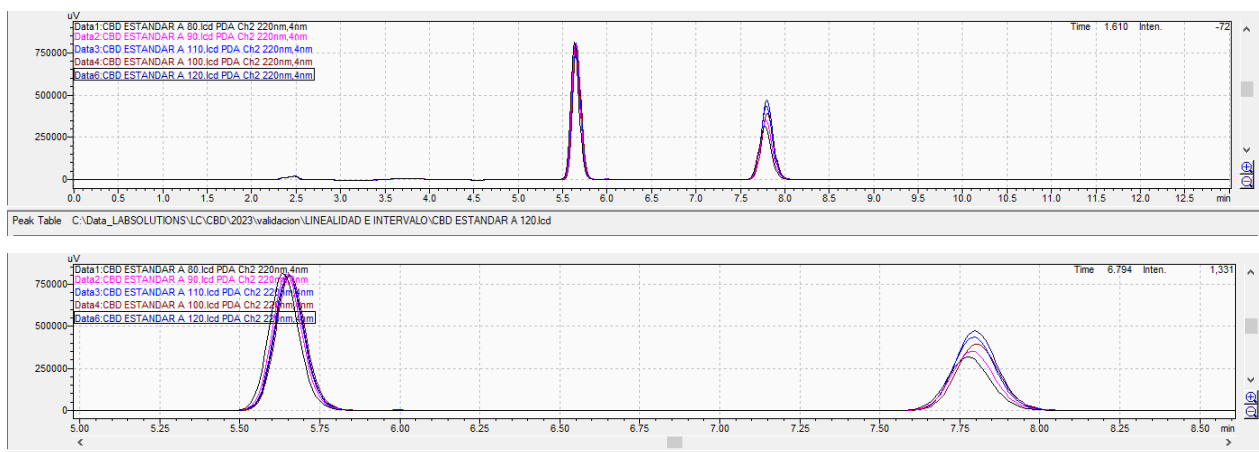
Tabla 15. Datos recopilados y resultados de linealidad e intervalo del método y del sistema

CBD	
Linealidad e intervalo del sistema	
Estándar	Coeficiente de Correlación (R²)
A	1.0000
B	0.9999
C	0.9987
Linealidad e intervalo del método	
Muestra	Coeficiente de Correlación (R²)
A	0.9999
B	0.9999
C	0.9999

Nota: valores obtenidos de la hoja de cálculo y concentraciones oficial de Laboratorios Zepol para protocolos de validación de métodos analíticos (ver Anexo 8)

Fuente: elaboración propia basado en el formato del Protocolo de Validación de Métodos analíticos³³

Figura 9. Evidencia del comportamiento del área generado del pico con respecto a la concentración de CBD estándar



Fuente: Software LabSolutions 5.1.1.1 del equipo del Laboratorio de Control de Calidad de Laboratorios Zepol S.A.

4.1.3.1.6. Robustez: Esta prueba evalúa que tan susceptible es el método analítico a cambios de las condiciones experimentales comunes en un Laboratorio de Control de Calidad. Por ende, la aplicación del método analítico será ejecutado por dos personas distintas y se calculará el coeficiente de variación. Dicha prueba se hará calculando la potencia de una muestra al 100% a partir de un estándar elaborado al 100% y se hace por triplicado.

Tabla 16. Datos recopilados y resultados de la prueba de robustez

PERSONA A				
Estándar	Masa (mg)	FD (mL)	Concentración (mg/mL)	Área de pico
1	26.3	500	0.05241	0.70183
2				0.70274
3				0.70423
4				0.70822
5				0.70518

Muestra	Masa (mg)	FD (mL)	Área de pico	Potencia (%)
1	26.1	500	0.69706	99.4
2			0.70104	99.9
3			0.69938	99.7

Nota: valores obtenidos de la hoja de cálculo y concentraciones oficial de Laboratorios Zepol para protocolos de validación de métodos analíticos (ver Anexo 8)

Fuente: Elaboración propia basado en el formato del Protocolo de Validación de Métodos analíticos³³

Tabla 17. Datos recopilados y resultados de la prueba de robustez

PERSONA B				
Estándar	Masa (mg)	FD (mL)	Concentración (mg/mL)	Área de pico
1	25.7	500	0.05121	0.67688
2				0.68309
3				0.68403
4				0.68235
5				0.68388
Muestra	Masa (mg)	FD (mL)	Área de pico	Potencia (%)
1	26.8	500	0.71827	100.6
2			0.72770	101.9
3			0.725525	101.6

Nota: valores obtenidos de la hoja de cálculo y concentraciones oficial de Laboratorios Zepol para protocolos de validación de métodos analíticos (ver Anexo 8)

Fuente: Elaboración propia basado en el formato del Protocolo de Validación de Métodos analíticos³³

4.1.3.2. Criterios de aceptación para cada una de las pruebas de desempeño del método analítico: Finalmente, con los resultados obtenidos y teniendo en cuenta los criterios de aceptación de cada prueba de desempeño, se puede definir que la validación de los métodos analíticos de cuantificación de CBD e identificación de THC en CBD materia prima es conforme y, por ende, se logra evidenciar que ambos métodos son correctos, confiables y reproducibles.

Tabla 18. Criterios de aceptación de la validación del método analítico

ITEM	Elemento Por Verificar	Criterio de aceptación	Resultado obtenido	Pasa o Falla
1	Especificidad	El porcentaje del placebo en los picos de interés tiene que ser menor o igual a 2%.	El porcentaje de interferencia del placebo es de 0.0%	PASA
2	Precisión	RSD del método y del sistema debe de ser $\leq 3\%$	Desviación estándar relativa del método es de 0.62% y del sistema es de 0.78%	PASA
3	Exactitud	% Recuperación entre 98-102% y coeficiente de variación entre resultados es $\leq 3\%$	Soluciones de 80% tienen una recuperación de 99.2%, 98.8% y 98.8% con un coeficiente de variación de 0.26%. Soluciones de 100% tienen una recuperación de 98.2%, 98.9% y 99.0% con un coeficiente de variación de 0.46%. Soluciones de 120% tienen una recuperación de 98.5%, 100.1% y 99.0% con un	PASA

			coeficiente de variación de 0.81%	
4.1	Linealidad	$R^2 = 0.995$ a 1 Los valores residuales no presentan tendencias. Homogeneidad de varianza (la varianza es constante para todas las concentraciones)	Las tres curvas de muestras tienen un R^2 de 0.9999, 0.9999 y 0.9999 respectivamente. Los valores residuales de las tres curvas no presentan tendencias Las tres curvas de estándar tienen un R^2 de 1.0000, 0.9999 y 0.9987 respectivamente. Los valores residuales de las tres curvas no presentan tendencias La homogeneidad de la varianza tanto del método como del sistema es constante	PASA
4.2	Intervalo	$R^2 = 0.995$ a 1	Todos los R^2 , tanto de los estándares como de las muestras, están dentro del rango de aceptación	PASA
5	Robustez	Coeficiente de variación entre resultados de analistas es $\leq 2\%$	Coeficiente de variación entre resultados de la persona A y B es de 1.06%	PASA

Nota: valores obtenidos de la hoja de cálculo y concentraciones oficial de Laboratorios Zepol para protocolos de validación de métodos analíticos (ver Anexo 8)

Fuente: Elaboración propia basado en el formato del Protocolo de Validación de Métodos analíticos³³

4.2. Recomendaciones.

4.2.1. Antes de plantear un método analítico basado en la cuantificación e identificación de un compuesto químico, se recomienda contemplar tener en el laboratorio la cantidad suficiente de reactivos a utilizar, los equipos debidamente calibrados y calificados y las herramientas necesarias para disminuir la incertidumbre de los resultados.

4.2.2. Se recomienda antes de iniciar la aplicación o desarrollo de una validación de un método analítico, hacer pruebas de idoneidad del sistema cromatográfico planteado para poder ajustar las variables involucradas a conveniencia, antes de malgastar recursos y tiempo.

4.2.3. Antes de iniciar el planteamiento del protocolo de validación de un método analítico, se recomienda comprar sustancias estándar de alta pureza y calidad, debidamente certificados. Además, si se requiere la compra, proceder con la misma con anticipación para evitar inconvenientes de tiempo a la hora de desarrollar la validación del método analítico.

CAPÍTULO V - REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Legare A, Raup-Konsavage M, Vrana E. Therapeutic Potential of Cannabis, Cannabidiol, and Cannabinoid-Based Pharmaceuticals. Pharm [Internet]. 2022 [citado 25 de julio de 2023]; 107 (4): 131-149. Disponible en <https://karger.com/pha/article/107/3-4/131/821186/Therapeutic-Potential-of-Cannabis-Cannabidiol-and>
2. American Chemical Society. Tendencias científicas de la investigación sobre cannabinoides. 1a ed. Estados Unidos: CAS; 2022. Disponible en: <https://www.cas.org/es-es/resources/cas-insights/consumer-goods/scientific-trends-cannabinoid-research>
3. Food and Drugs Administration. La FDA aprueba el primer medicamento compuesto por un ingrediente activo derivado de la marihuana para tratar algunos tipos de epilepsia poco comunes y severos. 1a ed. Estados Unidos: FDA; 2018. Disponible en: <https://www.fda.gov/news-events/comunicados-de-prensa/la-fda-aprueba-el-primer-medicamento-compuesto-por-un-ingrediente-activo-derivado-de-la-marihuana>
4. Food and Drugs Administration. FDA and Cannabis: Research and Drug Approval Process. 1a ed. Estados Unidos: CAS; 2023. Disponible en: <https://www.fda.gov/news-events/public-health-focus/fda-and-cannabis-research-and-drug-approval-process>
5. Sistema Costarricense de Información Jurídica. Ley: 10113, Ley del cannabis para uso medicinal y terapéutico y del cáñamo para uso alimentario e industrial. 46a ed. Costa Rica: SCIJ; 2022. Disponible en https://pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm_norma.aspx?param1=NRM&nValor1=1&nValor2=96518&nValor3=129338&strTipM=FN
6. Sistema Costarricense de Información Jurídica. Resolución N° 188-2006 (COMIECO XL): Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 11.03.39:06 Productos Farmacéuticos. Reglamento de Validación de Métodos Analíticos para la Evaluación de la Calidad de los Medicamentos. 80a ed. Costa Rica: SCIJ; 2007. Disponible en http://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm_norma.aspx?param1=NRM&nValor1=1&nValor2=59896&nValor3=75461&strTipM=FN

7. Laboratorios Zepol S.A. [Internet]. San José, Costa Rica; Zepol; 2023. [consultado el 25 de Julio de 2023]. Disponible en: <https://labzepol.com/>
8. Bannigan P, Aldeghi M, Bao Z, Häse F, Aspuru-Guzik A, Allen C. Machine learning directed drug formulation development. *Adv Drug Deliv Rev* [Internet]. 2021 [citado el 28 de julio de 2023];175(1): 1-14. Disponible en <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0169409X21001800>
9. Patel R, Barker J, ElShaer A. Pharmaceutical Excipients and Drug Metabolism: A Mini-Review. *Int. J. Mol. Sci* [Internet]. 2020 [citado el 28 de julio de 2023]; 21(21): 1-14. Disponible en <https://doi.org/10.3390/ijms21218224>
10. Ramole R, Mohini b, Ashish J. A Review: Analytical Method Development and Validation. *Sys Rev Pharm* [Internet]. 2021 [citado el 28 de julio de 2023];12(8): 1-5. Disponible en <https://www.sysrevpharm.org/articles/a-review-analytical-method-development-and-validation.pdf>
11. Bakarr K. Recent developments in sample preparation techniques combined with high-performance liquid chromatography: A critical review. *Chromatogr. A* [Internet]. 2021 [citado el 28 de julio de 2023];1654(1): 1-21. Disponible en <https://www-sciencedirect-com.ezproxy.sibdi.ucr.ac.cr/science/article/pii/S0021967321005689>
12. Deeksha G, Shruti B, Sonika S, Susmita P, Dipal K, Rajender K et al. Simultaneous spectrophotometric determination of drug components from their dosage formulations. *Spectrochimica Acta Part A* [Internet]. 2022 [citado el 28 de julio de 2023];270(1): 1-16. Disponible en <https://www-sciencedirect-com.ezproxy.sibdi.ucr.ac.cr/science/article/pii/S1386142521013962>
13. National Institute of Advanced Industrial Science and Technology. Spectral Database for Organic Compounds. 42a ed. Japón: AIST; 2023. Disponible en https://sdfs.db.aist.go.jp/sdfs/cgi-bin/direct_frame_top.cgi
14. Haddou S, Hassania E, Hibika A, Chahine A, Hammouti B. Phytochemical study using HPLC-UV/GC-MS of different of *Cannabis sativa L* seeds extracts from Morocco. *Mater. Today: Proc* [Internet]. 2023 [consultado el 31 de julio de 2023]; 72(1): 3896-3903. Disponible en <https://www-sciencedirect-com.ezproxy.sibdi.ucr.ac.cr/science/article/pii/S2214785322067347>

15. Method Validation vs. Verificacion vs. Transfer: What's the Difference? [Internet]. Florida, Estados Unidos: Consumer Product Testing Company; 2023 [consultado el 31 de julio del 2023]. Disponible en <https://cptclabs.com/method-validation-vs-verification/#:~:text=The%20USP%20goes%20on%20to,%2C%20Linearity%2C%20Range%20and%20Robustness.>
16. ElSohly M, Radwan M, Gul W, Chandra S, Galal A. Phytocannabinoids [Internet]. 1a ed. Estados Unidos: Springer International; 2018 [3 de agosto de 2023]. Disponible en: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-45541-9_1
17. Schilling S, Melzer R, McCabe P. Cannabis sativa. Current biology: CB [Internet]. 2020 [3 de agosto de 2023]; 30 (1): R8-R9. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.cub.2019.10.039>
18. Peng J, Fan M, An C, Ni F, Huang W, Luo J. A narrative review of molecular mechanism and therapeutic effect of cannabidiol (CBD). Basic Clin Pharmacol Toxicol [Internet]. 2022 [4 de agosto de 2023]; 130 (4): 439-456. Disponible en <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/bcpt.13710>
19. Urits I, Gress K, Charipova K, Habib K, Lee D, Lee C et al. Use of cannabidiol (CBD) for the treatment of chronic pain. Best Pract. Res. Clin. Anaesthesiol [Internet]. 2020 [4 de agosto de 2023]; 34(3): 463-477. Disponible en <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33004159/>
20. PubChem [Internet]. Estados Unidos: NCBI; 2023 [4 de agosto de 2023]. Cannabidiol; [1 aprox]. Disponible en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/644019>
21. Pasquaré S, Chamorro E, Gaveglione V. The endocannabinoid system in the visual process. J. Photochem. Photobiol [Internet]. 2023 [4 de agosto de 2023]; 13(1): 1-13. Disponible en <https://www.sciencedirect.com.ezproxy.sibdi.ucr.ac.cr/science/article/pii/S2666469022000525>
22. Same Y. Beneficial and deleterious effects of cannabinoids in the brain: the case of ultra-low dose THC. Am J Drug Alcohol Abuse [Internet]. 2019 [4 de agosto de 2023]; 45(6): 551-562. Disponible en <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30864864/>

23. PubChem [Internet]. Estados Unidos: NCBI; 2023 [4 de agosto de 2023]. Dronabinol; [1 aprox]. Disponible en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/16078#section=2D-Structure>
24. Parreño A. Metodología de Investigación en Salud. Riobamba. 1a ed. Riobamba, Ecuador: Instituto de Investigaciones; 2016
25. Laboratorios Zepol S.A. Organigrama Empresarial de Laboratorios Zepol S.A. 2a ed. San José: Laboratorios Zepol S.A; 2023
26. Laboratorios Zepol S.A. Método de análisis. 3a ed. San José: Laboratorios Zepol S.A; 2023
27. Laboratorios Zepol S.A. Especificaciones de calidad para materia prima. 7a ed. San José: Laboratorios Zepol S.A; 2023
28. Oficina de las Naciones Unidas contra la Droga y Delito. Métodos recomendados para la identificación y análisis del cannabis y los productos del cannabis. 1a ed. Nueva York, Estados Unidos: UNODC; 2010.
29. Ibáñez P. Estudio para la determinación de Cannabidiol (CBD). Aplicación y su determinación en plantas de cannabis [Tesis de maestría]. España: Universidad de Valladolid; 2021. Disponible en <https://uvadoc.uva.es/handle/10324/49748>
30. Analakkattillam S, Langsi V, Hanranhan J, Moore E. Analytical method validation for assay determination of cannabidiol and tetrahydrocannabinol in hemp oil infused products by RP-HPLC. Sci Rep [Internet]. 2022 [consultado el 04 de setiembre de 2023]; 12(1): 1-11. Disponible en <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35864137/>
31. Diario Oficial La Gaceta. Decreto ejecutivo N° 43689-MP-MAG-S. Año CXLIV. La Uruca, San José, Costa Rica: Imprenta Nacional; 2022. Disponible en <https://www.mag.go.cr/legislacion/2022/de-43689.pdf>
32. Sistema Costarricense de Información Jurídica. Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 11/.03.42:07 Productos Farmacéuticos. Medicamentos Para Uso Humano. Buenas Prácticas de Manufactura para la Industria Farmacéutica. 2a ed. Costa Rica: SCIJ; 2014. Disponible en http://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm_texto_completo.aspx?param1=NRTC&nValor1=1&nValor2=78580&nValor3=128438&strTipM=TC

- 33.** Laboratorios Zepol S.A. Método analítico de identificación de TCH y cuantificación de CBD en CBD materia prima por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). 4a ed. San José: Laboratorios Zepol S.A; 2023

CAPÍTULO VI – ANEXOS

**Anexo 1. Bitácora semanal de las actividades realizadas durante el internado en
Laboratorios Zepol S.A. en el segundo semestre del 2023**

Semana	Descripción breve de actividades semanales (aspectos objetivos)	Su reflexión acerca de las actividades semanales (aspectos subjetivos)
<p align="center">1 (10/7/23 - 14/7/23)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● Se familiarizó con el personal de la empresa y se estudiaron las bases del quehacer cotidiano del puesto asignado ● Se participó en capacitaciones de metodología de la investigación y validación de metodologías de la empresa ● Se colaboró en la formulación de distintas muestras de productos para verificar la calidad de este al cambiar proveedor de una materia prima ● Se comentó con el tutor el tema de investigación asignado y se inició en la búsqueda de información para el mismo ● Se colaboró en la redacción de especificaciones técnicas de producto terminado y empaque primario de productos de la empresa. 	<ul style="list-style-type: none"> ● Se logra tener una idea de las responsabilidades que se tendrán a lo largo del internado en la empresa ● Se logró formar lazos con distintos empleados y compañeros de trabajo que serán de ayuda en la estructuración y desarrollo del trabajo de investigación ● Se logró familiarizar con la cristalería y distintos equipos analíticos con los que cuenta la empresa que serán de uso cotidiano en la elaboración del trabajo de investigación. ● Se lograron sentar las bases de qué es lo que se quiere investigar y los posibles retos a solventar a la hora de desarrollar el trabajo de investigación

<p style="text-align: center;">2 (17/7/23 - 21/7/23)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● Se participó en las capacitaciones internas de Laboratorios Zepol S.A. sobre Buenas prácticas de Manufactura, ISOs, salud ocupacional, productos de la empresa, manejo de residuos y la política integrada de gestión ● Se participó en capacitaciones sobre los SOPs relacionados a validación de equipos, sistemas críticos, instalaciones, entre otros. ● Se sentaron las bases del proyecto de investigación, se redactaron tanto el título y objetivos, como la mayor parte de la introducción ● Se brindó ayuda al departamento de Diseño & Desarrollo en la prueba de un nuevo excipiente (formulación) para verificar que no tuviera alguna interacción que afecte la estabilidad del producto final. 	<ul style="list-style-type: none"> ● Se familiarizó con las políticas internas de la empresa y distintas regulaciones internacionales que se deben de cumplir día con día mientras se permanezca en Laboratorios Zepol S.A. ● Se logró entender el proceso de validación de distintos métodos y equipos para garantizar la calidad del producto final involucrado ● Se logró avanzar en el primer avance del trabajo de investigación ● Se logró mejorar la formulación de un producto innovador de Laboratorios Zepol a partir de prueba y error.
	<ul style="list-style-type: none"> ● Se participó en la formulación de una crema a base de lípidos 	<ul style="list-style-type: none"> ● Se logró participar en la manufactura de un lote piloto

<p style="text-align: center;">3</p> <p style="text-align: center;">(24/7/23 - 28/7/23)</p>	<p>porcinos en el departamento de Diseño y Desarrollo</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Se inició el proceso de recalificación de una incubadora, desde la elaboración del protocolo, hasta su plan de ejecución y reporte final ● Se finalizó la redacción del primer avance del Trabajo de Investigación. Se le envió dicho documento al tutor para su revisión y sugerencias. ● Se inició con la investigación de conceptos y el desarrollo del marco referencial del Trabajo de Investigación. 	<p>de estabilidad de una crema a base de lípidos porcinos.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Se desarrolló y aprendió a realizar la primera etapa de una recalificación de un equipo, el cual es la recalificación de la instalación de este. ● Tras discusión del planteamiento de la investigación y revisando lo que realmente se quería realizar, se finalizó el primer avance del TFG, con el visto bueno del tutor a cargo ● Se inició una espina de pescado para conocer los conceptos necesarios para entender el TFG.
<p style="text-align: center;">4</p> <p style="text-align: center;">(31/07/23 - 04/8/23)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● Se elaboró el protocolo de recalificación de Operación de la incubadora INC-03 del laboratorio de Microbiología ● Se desarrolló el plan de ejecución de dicho protocolo de recalificación de la incubadora ● Se redactó el reporte para la finalización de la recalificación de operación de dicho equipo ● Se siguió con la elaboración del Trabajo Final de Graduación del 	<ul style="list-style-type: none"> ● Se logra verificar que las condiciones de operación de la incubadora son óptimas para su uso en el Laboratorio de Microbiología de Control de Calidad. ● Se desarrollaron conceptos y términos que se consideran importantes para el completo y buen entendimiento del trabajo final de graduación. además de ser la base de la comprensión

	<p>Internado, siguiendo con el Capítulo II, relacionado con el marco referencial.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Se elaboró el protocolo de instalación de una llenadora y tapadora (LLE-18) ● Lectura de reglamentos técnicos centroamericanos referentes a la validación de métodos analíticos. Inicio de la redacción del marco referencial y contacto con el departamento de Control de Calidad para el desarrollo de los métodos analíticos. 	<p>final del proyecto en la empresa.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Se centran los criterios de aceptación referentes a una correcta instalación de la tapadora y llenadora de la presentación de 10g de Zepol adulto.
<p style="text-align: center;">5</p> <p>(07/08/23 - 11/08/23)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● Se ejecutó el protocolo de recalificación de la autoclave #2 del laboratorio de Microbiología del departamento de Control de calidad ● Se realizó el plan de ejecución de la recalificación de instalación de la autoclave #2 del Laboratorio de Microbiología. ● Se redactó el reporte de la recalificación de instalación de la autoclave #2 del Laboratorio de Microbiología y se pasó a firmas. ● Se siguió con la redacción de conceptos de importancia para el 	<ul style="list-style-type: none"> ● Se establecieron los criterios de aceptación a cumplir para que la autoclave #2 del Laboratorio de Microbiología de Control de Calidad sea considerada óptima para su utilización y operación. ● Se entiende el proceso de planteamiento y documentación a utilizar para una correcta redacción de un método analítico y el proceso de validación de este (estadística, criterios de aceptación, pruebas a realizar, entre otros). ● Se entendió como opera el

	<p>entendimiento del Trabajo Final de Graduación.</p> <ul style="list-style-type: none"> • - Enviar primer avance al tutor y a la Universidad y seguimiento de la redacción del Capítulo II del Trabajo Final de Graduación. 	<p>HPLC del laboratorio de Control de Calidad, lo cual es fundamental para el desarrollo del Trabajo Final de Graduación relacionado con el método analítico y validación.</p>
<p>6 (15/08/23 – 18/08/23)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Se elaboró el protocolo de recalificación de operación de la autoclave #2 del laboratorio de Microbiología del departamento de Control de calidad • Se inició a investigar sobre el manejo de la redacción y planteamiento de métodos analíticos y el proceso de validación de los mismo internamente en Laboratorios Zepol S.A. • Se recibió una tutoría de la utilización del HPLC del laboratorio de Control de Calidad de Laboratorios Zepol S.A. • Capacitación con respecto al uso de HPLC del laboratorio de control de calidad. 	<ul style="list-style-type: none"> • Se establecieron los criterios de aceptación a cumplir para que la autoclave #2 del Laboratorio de Microbiología de Control de Calidad sea considerada óptima para su utilización y operación. • Se entiende el proceso de planteamiento y documentación a utilizar para una correcta redacción de un método analítico y el proceso de validación de este (estadística, criterios de aceptación, pruebas a realizar, entre otros). • Se entendió como opera el HPLC del laboratorio de Control de Calidad, lo cual es fundamental para el desarrollo del Trabajo Final de Graduación relacionado con el método analítico y validación.

<p style="text-align: center;">7 (21/08/23 - 25/08/23)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● Se inició con la redacción del reporte de recalificación de IQ de una llenadora de latitas (LLE-18) y se envió firmas ● Se siguió en la investigación sobre el manejo de la redacción y planteamiento de métodos analíticos y el proceso de validación de los mismo internamente en Laboratorios Zepol S.A. ● Se cierra finalmente la recalificación de la autoclave ACL-02 tras su aprobación por dirección técnica ● Investigación referente a reglamentación sobre uso de CBD y THC según MINSA a nivel nacional. 	<ul style="list-style-type: none"> ● Se evidenció el estado de la instalación del equipo tras 5 años de la primera calificación y con respecto a lo visto, se cataloga el equipo como conforme o no conforme ● Se entiende el proceso de planteamiento y documentación a utilizar para una correcta redacción de un método analítico y el proceso de validación de este (estadística, criterios de aceptación, pruebas a realizar, entre otros). ● La autoclave ACL-02 se encuentra conforme tanto en instalación como en operación y se considera finalmente calificada para su uso en el laboratorio de microbiología
<p style="text-align: center;">8 (28/08/23 - 01/09/23)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● Se finalizó el proceso de recalificación de instalación de la llenadora LLE-18 y se inició con la redacción del protocolo OQ de la misma. ● Se inicia la redacción y estudio de la metodología analítica de cuantificación de CBD e identificación de THC, 	<ul style="list-style-type: none"> ● Tras evidenciar que el equipo se mantiene debidamente instalado, se sigue con la recalificación de la operación de este. ● Se redacta el protocolo de validación del método analítico a utilizar, basándose en referencias internacionales y

	<p>elaborando un protocolo de validación.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Contacto con Control de calidad para agendar el uso del HPLC del laboratorio ● Se inicia con la redacción del protocolo IQ de un molino coloidal (MOL-04) y se envió a firmas ● Propuesta de método analítico de cuantificación de CBD e identificación de THC al jefe de control de Calidad. 	<p>gubernamentales.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Se busca agendar un día el HPLC para evaluar si la metodología y protocolo propuesto, cumple con una buena idoneidad del sistema cromatográfico. ● Se redactó los criterios de aceptación para evidenciar que el equipo se mantiene debidamente instalado.
<p style="text-align: center;">9 (04/0/23 - 08/09/23)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● Se inicia la ejecución del protocolo OQ de la llenadora LLE-18. ● Se finalizó el planteamiento del protocolo de validación del método analítico del CBD y THC. ● Se inicia trámites de cotización de CBD estándar primario para estandarizar un estándar secundario ● Se inicia la ejecución del protocolo IQ del molino coloidal MOL-04 ● Elaboración de protocolo de validación del método analítico y revisión de este por parte de 	<ul style="list-style-type: none"> ● Se ejecuta el protocolo de calificación de operación de la llenadora para visualizar si cumple con los criterios de aceptación descritos en dicho protocolo. ● Se tiene el protocolo de validación finalizado a la espera de aplicarlo y modificarlo en un futuro si así lo requiere. ● Se requiere comprar un estándar primario de CBD para estandarizar un estándar secundario para que la aplicación del método sea lo menos costoso posible.

	<p>tutor y jefe de control de calidad.</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● Se ejecuta el protocolo de calificación de instalación del molino coloidal para visualizar si cumple con los criterios de aceptación ● descritos en dicho protocolo
<p style="text-align: center;">10 (11/09/23 - 14/09/23)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● Se desarrolla el reporte de la recalificación de operación de la llenadora LLE-18 ● Desarrollo del reporte de la recalificación de instalación del molino coloidal MOL-04 ● Capacitación de cromatografía líquida y cromatografía de gases en el laboratorio de control de calidad ● Elaboración de prueba de llenado de un protector térmico elaborado por el departamento de diseño y desarrollo. ● Cotización distintas opciones del estándar de CBD para ser utilizado en la ejecución del TFG ● Corrida cromatográfica para verificar idoneidad del sistema 	<ul style="list-style-type: none"> ● Se realiza el reporte de la recalificación de operación del equipo LLE-18 para evidenciar si este cumple o no con los criterios de aceptación presentes en su respectivo protocolo y evaluar así si es factible su operación. ● Se realiza el reporte de la recalificación de instalación del equipo MOL-04 para evidenciar si este cumple o no con los criterios de aceptación presentes en su respectivo protocolo y evaluar si este se mantiene correctamente instalado ● Se recibió asesoría del uso del HPLC y el GC para un futuro uso en el desarrollo del TFG. ● Se evalúa un correcto llenado de protector térmico en el empaque primario final.

<p style="text-align: center;">11 (18/09/23 - 22/09/23)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● Se cierra la recalificación de la llenadora LLE-18 ● Se apoya al departamento de Investigación & Desarrollo en la formulación de muestras de Manzatín, protector térmico, atomizador nasal y Zepol Light ● Se practica el uso del HPLC con corridas de muestras de CBD a distintas concentraciones para verificar idoneidad del sistema planteado ● Revisión del segundo avance con el tutor y envío del mismo a la Universidad 	<ul style="list-style-type: none"> ● Se dá por cerrada la recalificación de instalación y operación del equipo LLE-18, dando con un resultado conforme a los protocolos aprobados. ● Se fomenta la práctica de formulación, manufactura y procedimiento de elaboración de cremas, pastas y ungüentos, además de productos poco usuales como el atomizador nasal y protector térmico de cabello ● Se practica el uso correcto del HPLC, tanto su instalación como su operación y se visualiza el comportamiento del método analítico planteado con la realidad del Laboratorio de Control de Calidad.
<p style="text-align: center;">12 (25/09/23 - 29/09/23)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● Se inicia con la elaboración de un análisis de riesgo del AGI-08 para evaluar si el equipo requiere una recalificación actualmente ● Se apoya en la manufactura de muestras de Zepol muscular con dos diferentes porcentajes de un nuevo polisorbato 20 ● Se labora un lote piloto de 	<ul style="list-style-type: none"> ● Se evalúa a partir de documentación y mantenimientos preventivos si el equipo requiere hoy o no, una recalificación o se considera que se mantiene calificado ● Se evalúa si el cambio de materia prima de polisorbato 20 varía considerablemente la

	<p>atomizador nasal para estabilidad acelerada</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Se obtienen datos fisicoquímicos de Snorex para realizar sus especificaciones de calidad ● Ajustes al método analítico si fuera necesario 	<p>viscosidad del Zepol muscular o mantiene resultados dentro de su criterio de aceptación.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Se elabora y empaca un lote piloto de Snorex para llevar a estabilidad acelerada y apuntar a una expira de 2 años mínimo. ● Se calcula viscosidad, pH y densidad de atomizador térmico para elaborar especificaciones de calidad del producto.
<p style="text-align: center;">13 (02/10/23 - 06/10/23)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● Se completa el análisis de riesgo del AGI-08 ● Se aplica el plan de ejecución de la recalificación de operación del MOL-04 ● Se realiza el reporte de resultados de la aplicación del plan de ejecución de la recalificación del MOL-04 ● Se actualizan especificaciones de materia prima de tres productos de Laboratorios Zepol S.A. ● Se realiza el protocolo de recalificación de Instalación de la LLE-01 ● Ajustes a la validación del método si fuera necesario 	<ul style="list-style-type: none"> ● Se evalúa el riesgo del AGI-08, dando como resultado que el equipo no requiere una recalificación actualmente ya que aún se mantiene calificada su instalación y operación ● Se aplica el plan de ejecución y su respectivo reporte sobre la operación del MOL-04, dando como resultado que el equipo se mantiene en óptimas condiciones operativas. ● Se revisan y actualizan especificaciones de materia prima ya que se requiere revisión por fecha. ● Se redacta el protocolo de recalificación para evaluar la

		instalación de la Llenadora 01
14 (09/10/23 - 13/10/23)	<ul style="list-style-type: none"> ● Se revisan especificaciones de empaque de productos de Estados Unidos para que estén preparados para auditoría de la FDA ● Se revisan especificaciones de materia prima de productos de Estados Unidos para que estén preparados para auditoría de la FDA ● Se elaboraron pruebas de formulación para una pasta dental natural requerido por contratación externa ● Se obtiene una formulación adecuada y se prosigue y pruebas de compatibilidad con el material del empaque primario. ● Ajustes a la validación del método si fuera necesario 	<ul style="list-style-type: none"> ● Se requiere la revisión de las especificaciones de material de empaque de los productos exportados a Estados Unidos para verificar que se encuentren vigentes ● Se requiere la revisión de las especificaciones de material prima de los productos exportados a Estados Unidos para verificar que se encuentren vigentes ● Se prueban formulaciones de pasta dental para poder dar con la formulación más estable posible a largo plazo ● Se estudia la compatibilidad del producto formulado al material de distintos empaques primarios.
15 (16/10/23 - 20/10/23)	<ul style="list-style-type: none"> ● Elaboración de un lote piloto del producto Perimus, el cual es un producto por contratación ● Aplicación del plan de ejecución del protocolo de instalación de la llenadora 01 para elaborar su respectivo reporte ● Inspección de los equipos BAL- 	<ul style="list-style-type: none"> ● Se elaboró un lote piloto de producto Perimus para colocarlo en estabilidad y además mostrarle al cliente el aspecto final del producto ● Se aplicó el plan de ejecución de instalación de la LLE-01 para evidenciar que dicho

	<p>15 y MAR-03 para elaborar análisis de riesgo</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Ajustes a la validación del método si fuera necesario 	<p>equipo se mantiene calificado</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Se inspecciona el aspecto, documentación y mantenimiento de los últimos 3 años de ambos equipos para verificar si el riesgo de perder la calificación es despreciable.
<p>16 (23/10/2023 - 27/10/2023)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● Ajustes a la validación del método analítico si fuera necesario ● Elaboración de dos muestras de pasta dental de bicarbonato y dos de carbón activado para ser mostrados a los clientes. 	<ul style="list-style-type: none"> ● Ajuste de cálculos y el sistema cromatográfico del protocolo de validación antes de iniciar con el plan de ejecución ● Elaboración de muestras piloto de pastas dentales para verificar incompatibilidades
<p>17 (30/10/2023 - 03/11/2023)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● Ajustes a la validación del método analítico si fuera necesario ● Formulación de distintas pastas dentales 	<ul style="list-style-type: none"> ● Ajuste de cálculos y el sistema cromatográfico del protocolo de validación antes de iniciar con el plan de ejecución ● Verificación de distintas formulaciones de pastas dentales para evidenciar cual de todas mantiene las mejores características organolépticas.
<p>18 (06/11/2023 - 10/11/2023)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● Ajustes a la validación del método analítico si fuera necesario ● Limpieza y reacomodo del laboratorio de investigación y desarrollo 	<ul style="list-style-type: none"> ● Ajuste de cálculos y el sistema cromatográfico del protocolo de validación antes de iniciar con el plan de ejecución ● Desarrollo de una bitácora de todas las materias primas

		encontradas en el laboratorio de Investigación y Desarrollo
<p>19 (13/11/2023 – 17/11/2023)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● Revisión y aprobación del protocolo de validación ● Apoyo y participación como runner en la auditoría de la FDA 	<ul style="list-style-type: none"> ● Revisión del protocolo de validación del método analítico y se envía a el tutor, jefe de control de calidad y director técnico para su revisión ● Se apoyó a la empresa como runner con documentos necesarios al momento de la auditoría de la FDA.
<p>20 (20/11/2023 – 24/11/2023)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● Desarrollo del tercer avance del TFG ● Revisión del tercer avance junto al tutor ● Enviar el tercer avance a la Universidad ● Se elaboró la estandarización de un estándar interno con el estándar secundario comprado 	<ul style="list-style-type: none"> ● Se elaboró y finalizó el tercer avance del TFG y se revisó con el tutor. ● Finalmente se envió a la universidad ● Para reducir costos, se elaboró un estándar interno con potencia conocida.
<p>21 (27/11/2023 – 01/12/2023)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● Desarrollo de las pruebas del protocolo de validación ● Preparación de balones aforados, cálculos correspondientes, hojas de cálculo, limpieza de cristalería y recopilación de picos y tiempos de retención de las sustancias a 	<ul style="list-style-type: none"> ● Tras haber logrado dar con un sistema cromatográfico adecuado para la separación de las dos sustancias químicas a analizar, se inició con el desarrollo de todo el proceso de validación

	partir del software del HPLC	
<p style="text-align: center;">22 (04/12/2023 – 08/12/2023)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● Recopilación de resultados y datos obtenidos de la ejecución del protocolo ● Elaboración del reporte del protocolo de validación de método analítico ● Aprobación y revisión del reporte del protocolo de validación ● Últimas modificaciones al trabajo si fueran necesarias ● Defensa del TFG en Laboratorios Zepol 	<ul style="list-style-type: none"> ● Tras la recopilación de resultados, se prosigue al trato de datos para dar con valores manejables según criterios de aceptación acordados en el protocolo de validación. ● Se genera un reporte de resultados para Laboratorios Zepol para evidenciar la finalización del proceso de validación ● Se expone lo elaborado en el TFG durante todo el internado a el tutor e invitados del mismo laboratorio.
<p style="text-align: center;">23 (11/12/2023 – 15/12/2023)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● Elaboración de la presentación del TFG ● Finiquitar últimos detalles previos a la defensa del TFG en la Universidad ● Defensa del TFG en la Universidad 	<ul style="list-style-type: none"> ● Tras la defensa del TFG en Laboratorios Zepol, se toma nota de las recomendaciones y retroalimentaciones del jurado, previo a la defensa en la Universidad

Anexo 2. Información referencial de la materia prima de CBD utilizada para el Trabajo Final de Graduación.

Nombre	CBD ISOLATE (POLVO CRISTALINO)
Sinónimos	Hemp extract, CBD.
Denominación INCI	Cannabidiol
Marca comercial	Cannabidiol CBD
Código interno	3010059
CAS	13956-29-1


Fuente: Elaboración propia basado en las especificaciones de calidad para CBD materia prima de Laboratorios Zepol S.A²⁶.

Anexo 3. Especificaciones de calidad para CBD materia prima

Especificación	Criterio de aceptación	Referencia de método
Apariencia	Polvo blanco sin olor	Proveedor
Punto de fusión	63-68°C	Proveedor
Identificación	El tiempo de retención del pico de CBD de la muestra corresponde al del pico de CBD de la solución estándar.	Método interno
Pureza CBD	≥ 98.0	Proveedor
Pruebas microbiológicas	<ul style="list-style-type: none"> - Recuento aerobio: <1000 ufc/mL. - Hongos y Levaduras: <100 ufc/mL. - <i>Staphylococcus aureus</i>: Ausencia. - <i>Pseudomonas aeruginosa</i>: Ausencia. - <i>Escherichia coli</i>: Ausencia. 	Método interno

Fuente: Elaboración propia basado en las especificaciones de calidad para CBD materia prima de Laboratorios Zepol S.A²⁶.

Anexo 4. Portada del certificado de análisis del estándar primario de CBD utilizado en el proceso de validación del método analítico

 **PhytoLab**
SAFEGUARDING BOTANICAL QUALITY.

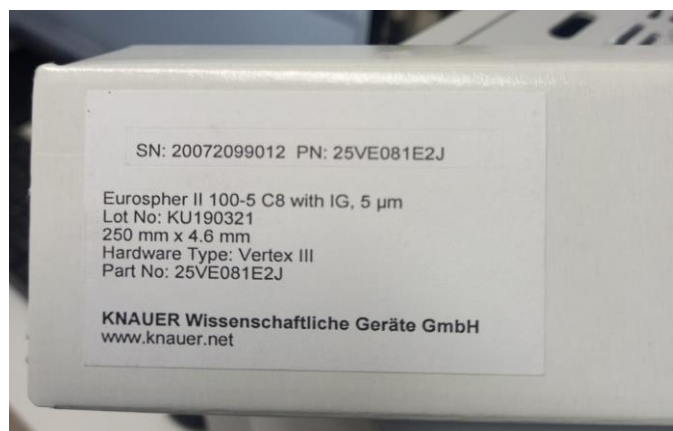
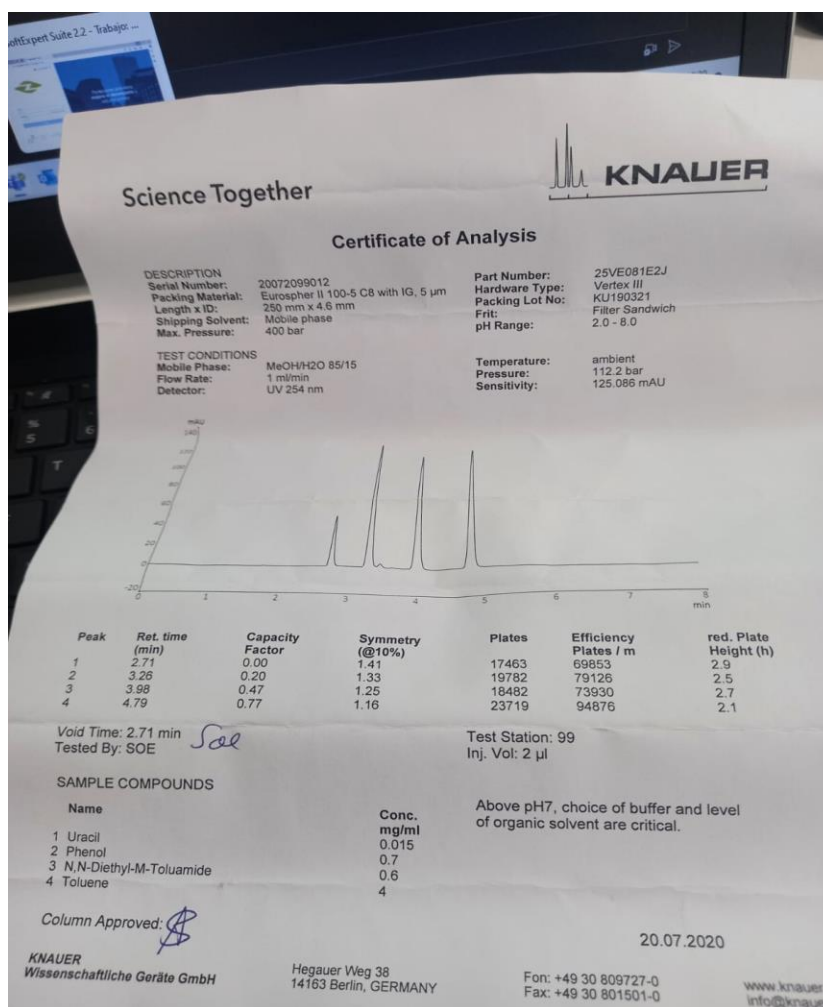
PhytoLab GmbH & Co. KG Dutendorfer Str. 5-7 91487 Vestenbergsgreuth
PhytoLab GmbH & Co. KG Dutendorfer Str. 5-7 91487 Vestenbergsgreuth Germany
Contact: phyproof® Reference Substances
Tel: +49(0)9163/88-395
Fax: +49(0)9163/88-456
ref-substances@phytolab.de
https://phyproof.phytolab.com
Date: 24.04.23

Certificate of analysis

Batch: 134856475
Article: 85705 Cannabidiol
Manufacturing date: 07/2021
Expiry date: 04/2025

Test	Unit	Limit	Testresult
Appearance, SOP 100005		powder	Conform
Color, SOP 100006		white	Conform
Identification (HPLC-HR/MS), SOP 204125		Conform	Conform
Identification (UV spectrum from HPLC-DAD analysis) according to specification, SOP 204311		Conform	Conform
Identification (1H-NMR-spectroscopy), (outsourced), SOP 206010		Conform	Conform
Identification (13C-NMR-spectroscopy), (outsourced), SOP 206020		Conform	Conform
Water content, (micro determination, coulometric titration), Ph.Eur. 10.0., 2.5.32, SOP 304291 Vers. 2018-01: Mean value	%		< 0.1
Peakpurity, (HPLC), SOP 401367		Conform	Conform
Cannabinoids (HPLC), multi-method, SOP 442442: Cannabidiol	%	> = 95.00	99.31
Total THC (sum of delta-9-THC and delta-9-THC-acid) in hemp and hemp products (HPLC-UV), SOP 501665: delta-8-tetrahydrocannabinol (mean value)	%	< = 0.10	< 0.02

Anexo 5. Información de la columna cromatográfica utilizada y su respectivo certificado de análisis



Anexo 6. Reporte de Análisis de la idoneidad del sistema cromatográfico planteado

12/8/2023 12:00:51 PM Page 1 / 1



Departamento de Calidad Reporte de Analisis

Sample Name : THC CBD IDONEIDAD 3
 Sample ID : THC CBD IDONEIDAD 3
 Data Filename : THC CBD IDONEIDAD 3.lcd
 Method Filename : CUANTIFICACION CBD.lcm
 Sample Type : Unknown
 Injection Volume : 1 uL
 Date Acquired : 11/29/2023 9:43:15 AM
 Date Processed : 12/8/2023 11:46:38 AM

Cromatograma

mAU

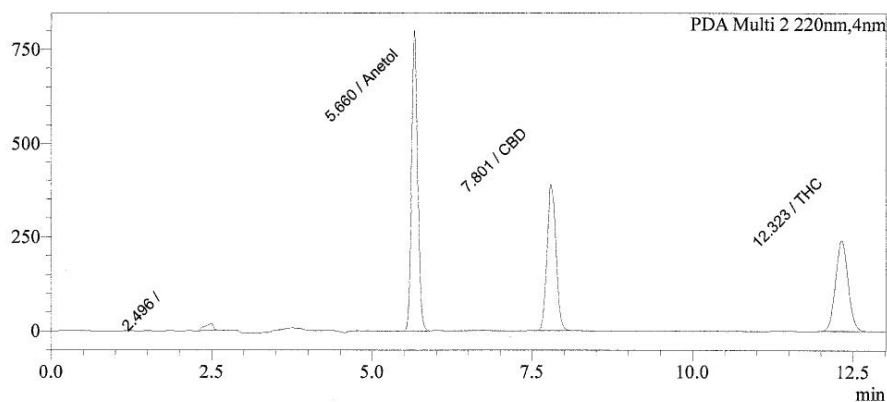


Tabla de datos

PDA Ch2 220nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Name
1	2.496	169349	18267	0.000	
2	5.660	5436125	801904	0.000	Anetol
3	7.801	3734106	388408	0.000	CBD
4	12.323	3320976	241453	0.000	THC
Total		12660555	1450031		

QuantitativeResult

ID#	Name	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	CBD	7.801	3734106	388408	0.000
2	THC	12.323	3320976	241453	0.000
3	Anetol	5.660	5436125	801904	0.000
Total			12491206	1431765	

Unit	Resolution(USP)
ug/mL	9.245
ug/mL	14.147
ug/mL	12.416

Anexo 7. Guía de corridas cromatográficas a cumplir para el proceso de validación de los métodos analíticos.

Número	Corrida	Estado
IDONEIDAD DEL SISTEMA Y ESPECIFICIDAD		
01	Placebo 100%	
02	CBD estándar 100%	
03	THC estándar 100% (1)	
04	CBD 100% + THC 100% estándar 1 (2)	
05	CBD 100% + THC 100% estándar 2 (2)	
06	CBD 100% + THC 100% estándar 3 (2)	
LINEALIDAD, INTERVALO Y RECUPERACIÓN (EXACTITUD)		
07	Curva Estándar A CBD 80%	
08	Curva Estándar B CBD 80%	
09	Curva Estándar C CBD 80%	
10	Recuperación Muestra A CBD 80%	
11	Recuperación Muestra B CBD 80%	
12	Recuperación Muestra C CBD 80%	
13	Curva Estándar A CBD 90%	
14	Curva Estándar B CBD 90%	
15	Curva Estándar C CBD 90%	
16	Recuperación Muestra A CBD 90%	
17	Recuperación Muestra B CBD 90%	
18	Recuperación Muestra C CBD 90%	
19	Curva Estándar A CBD 100%	
20	Curva Estándar B CBD 100%	
21	Curva Estándar C CBD 100%	
22	Recuperación Muestra A CBD 100%	
23	Recuperación Muestra B CBD 100%	
24	Recuperación Muestra C CBD 100%	
25	Curva Estándar A CBD 110%	

26	Curva Estándar B CBD 110%	
27	Curva Estándar C CBD 110%	
28	Recuperación Muestra A CBD 110%	
29	Recuperación Muestra B CBD 110%	
30	Recuperación Muestra C CBD 110%	
31	Curva Estándar A CBD 120%	
32	Curva Estándar B CBD 120%	
33	Curva Estándar C CBD 120%	
34	Recuperación Muestra A CBD 120%	
35	Recuperación Muestra B CBD 120%	
36	Recuperación Muestra C CBD 120%	
PRECISIÓN		
-	Datos de 80%, 100% y 120% de linealidad (CBD)	
ROBUSTEZ		
37	Estándar CBD 100% 1 (persona A)	
38	Estándar CBD 100% 2 (persona A)	
39	Estándar CBD 100% 3 (persona A)	
40	Estándar CBD 100% 4 (persona A)	
41	Estándar CBD 100% 5 (persona A)	
42	Muestra CBD 100% 1 (persona A)	
43	Muestra CBD 100% 2 (persona A)	
44	Muestra CBD 100% 3 (persona A)	
45	Estándar CBD 100% 1 (persona B)	
46	Estándar CBD 100% 2 (persona B)	
47	Estándar CBD 100% 3 (persona B)	
48	Estándar CBD 100% 4 (persona B)	
49	Estándar CBD 100% 4 (persona B)	
50	Muestra CBD 100% 1 (persona B)	
51	Muestra CBD 100% 2 (persona B)	
52	Muestra CBD 100% 3 (persona B)	

Anexo 8. Evidencia de las hojas de cálculo utilizada para recopilar todos los resultados del proceso de validación del método

VALIDACION CUANTIFICACION CBD E IDENTIFICACION THC					
METODO DE ANALISIS PARA MATERIA PRIMA					
REPORTE DE ESPECIFICIDAD DEL METODO					
A. INFORMACION GENERAL					
	INGREDIENTE ACTIVO	CBD			
	ORIGEN DEL METODO	INTERNO			
	CLASIFICACION DEL METODO ANALITICO	NO OFICIAL			
	ANALISTA	IVÁN RODRÍGUEZ			
	FECHAS DE VALIDACION	30-nov-23			
B. DATOS EXPERIMENTALES					
	Placebo	Area anetol metanol/Anetol	Area CBD	CBD/Anetol	
1	0	5407402	0	3575662	0,6613
2	0	5426498	0	3751082	0,6913
3	0	5436125	0	3734106	0,6869
				POTENCIA	99,64%
C. CALCULOS					
	PROMEDIO DE LECTURAS PLACEBO	0,00			
	DESVIACION ESTANDAR	0,00			
	PROMEDIO DEL LECTURAS PATRON	0,6798			
	DESVIACION ESTANDAR	0,02			
	PORCENTAJE DEL PLACEBO EN MUESTRAS	0,00 %			
D. EVALUACION DE RESULTADOS					
CRITERO DE ACEPTACION					
	EL PORCENTAJE DE PLACEBO EN LAS MUESTRAS ES \leq 2%				
RESULTADO DE LA EVALUACION DE ESPECIFICIDAD DEL METODO					
Revisado por	AR		Fecha:	7-12-23	

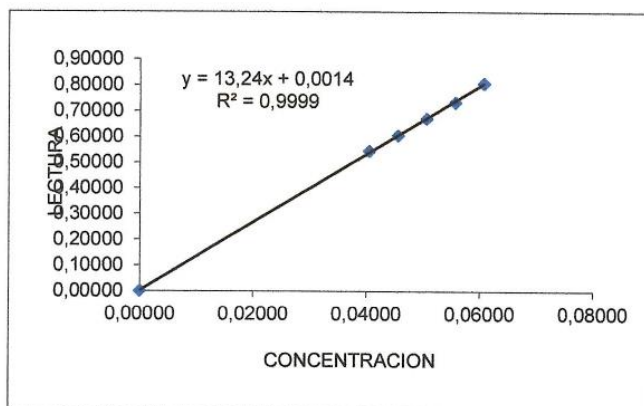
VALIDACION CUANTIFICACION CBD E IDENTIFICACION THC
 METODO DE ANALISIS PARA MATERIA PRIMA
 REPORTE DE LINEALIDAD DEL METODO (REPLICA 1)

A. INFORMACION GENERAL

INGREDIENTE ACTIVO	CBD
ORIGEN DEL METODO	INTERNO
CLASIFICACION DEL METODO ANALITICO	NO OFICIAL
ANALISTA	IVÁN RODRÍGUEZ
FECHAS DE VALIDACION	30-nov-23

B. LINEALIDAD

% ACTIVO	Masa (mg)	25,30856
	Cn (mg/mL)	CBD/Anetol
0	0,00000	0,00000
80	0,04049	0,54316
90	0,04556	0,60478
100	0,05062	0,67071
110	0,05568	0,73406
120	0,06074	0,80662



C. CALCULOS

PENDIENTE	1,324E+01
INTERCEPTO	1,399E-03
R2	0,9999

D. EVALUACION DE RESULTADOS

CRITERIO DE ACEPTACION

INTERCEPTO = 0
 $0,995 \leq R^2 \leq 1,00$

RESULTADO DE LA EVALUACION DE LINEALIDAD DEL METODO

Revisado por

AR

Fecha:

7-12-23

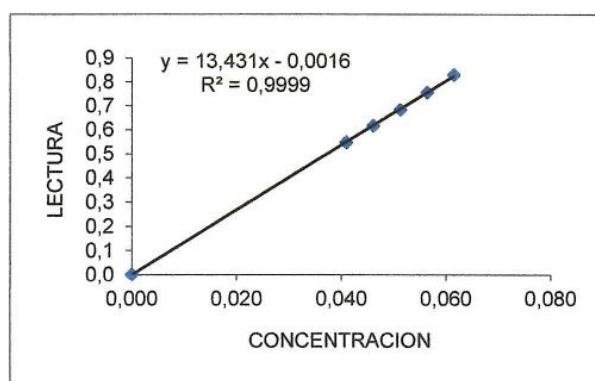
VALIDACION PARA POTENCIA
METODO DE ANALISIS PARA MATERIA PRIMA
REPORTE DE LINEALIDAD DEL METODO (REPLICA 2)

A. INFORMACION GENERAL

INGREDIENTE ACTIVO	CBD
ORIGEN DEL METODO	INTERNO
CLASIFICACION DEL METODO ANALITICO	NO OFICIAL
ANALISTA	IVÁN RODRÍGUEZ
FECHAS DE VALIDACION	30-nov-23

B. LINEALIDAD

% ACTIVO	Masa (mg)	25,60748
	Cn (mg/mL)	CBD/Anetol
0	0,000	0,0
80	0,0410	0,5471
90	0,0461	0,6153
100	0,0512	0,6832
110	0,0563	0,7552
120	0,0615	0,8291



C. CALCULOS

PENDIENTE	1,343E+01
INTERCEPTO	-1,599E-03
R2	0,9999

D. EVALUACION DE RESULTADOS

CRITERIO DE ACEPTACION

INTERCEPTO = 0
 $0,995 \leq R^2 \leq 1,00$

Revisado por AR Fecha: 7-12-23

RESULTADO DE LA EVALUACION DE LINEALIDAD DEL METODO

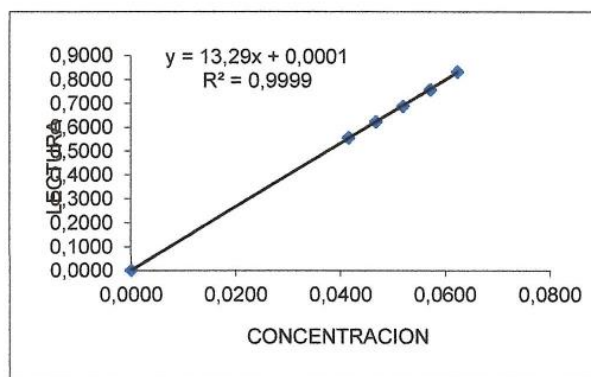
VALIDACION PARA POTENCIA
METODO DE ANALISIS PARA MATERIA PRIMA
REPORTE DE LINEALIDAD DEL METODO (REPLICA 3)

A. INFORMACION GENERAL

INGREDIENTE ACTIVO	CBD
ORIGEN DEL METODO	INTERNO
CLASIFICACION DEL METODO ANALITICO	NO OFICIAL
ANALISTA	IVÁN RODRÍGUEZ
FECHAS DE VALIDACION	30-nov-23

B. LINEALIDAD

	Masa (mg)	26,00604
% ACTIVO	Cn (mg/mL)	CBD/Anetol
0	0,0000	0,0000
80	0,0416	0,5556
90	0,0468	0,6227
100	0,0520	0,6878
110	0,0572	0,7582
120	0,0624	0,8328



C. CALCULOS

PENDIENTE	1,329E+01
INTERCEPTO	1,373E-04
R2	0,9999

D. EVALUACION DE RESULTADOS

CRITERIO DE ACEPTACION

INTERCEPTO = 0
 $0,995 \leq R^2 \leq 1,00$

RESULTADO DE LA EVALUACION DE LINEALIDAD DEL METODO

Revisado por

A. Ron

Fecha:

7-12-23

HOMOGENEIDAD DE VARIANCIAS EN LA LINEALIDAD DE METODO

A. INFORMACION GENERAL

INGREDIENTE ACTIVO
 ORIGEN DEL METODO
 CLASIFICACION DEL METODO ANALITICO
 ANALISTA
 FECHAS DE VALIDACION

CBD
 INTERNO
 NO OFICIAL
 IVAN RODRIGUEZ
 30/11/2023

B. DATOS EXPERIMENTALES

PORCENTAJE EVALUADO	CONCENTRACION (mg/mL)	FACTOR RESPUESTA ((CBD/ANETOL)/CONCENTRACION)	PROMEDIO	DESVIACION ESTANDAR	DESVIACION ESTÁNDAR RELATIVA	VARIANCIA (S ²)
80	0,0405	13,4135	13,3727	0,03532	0,26410	0,06974799
	0,0410	13,3521				
	0,0416	13,3525				
90	0,0456	13,2758	13,3094	0,03690	0,27724	0,07686404
	0,0461	13,3489				
	0,0468	13,3035				
100	0,0506	13,2507	13,2709	0,06070	0,45739	0,20920436
	0,0512	13,3392				
	0,0520	13,2230				
110	0,0557	13,1839	13,2805	0,11298	0,85075	0,72377184
	0,0563	13,4047				
	0,0572	13,2528				
120	0,0607	13,2798	13,3709	0,10772	0,80567	0,64910295
	0,0615	13,4898				
	0,0624	13,3430				

$$S^2_{MAX} = 0,72377184$$

$$G_{TABLAS}(\alpha=0.05; K=5; n=3) = 0,68$$

$$G_{EXP} = 0,272592$$

$$G_{EXP} = S^2_{MAX} / (\Sigma S_i)$$

$$G_{EXP} = 0,272592$$

$$G_{TABLAS}(\alpha=0.05; K=5; n=3) = 0,68$$

CRITERIO DE ACEPTACION

$$G_{TABLAS}(\alpha=0.05; K=5; n=3) > G_{EXP}$$

RESULTADO DE LA EVALUACION DE HOMOGENEIDAD DE VARIANCIAS

Revisado por

AR

Fecha:

7-12-27

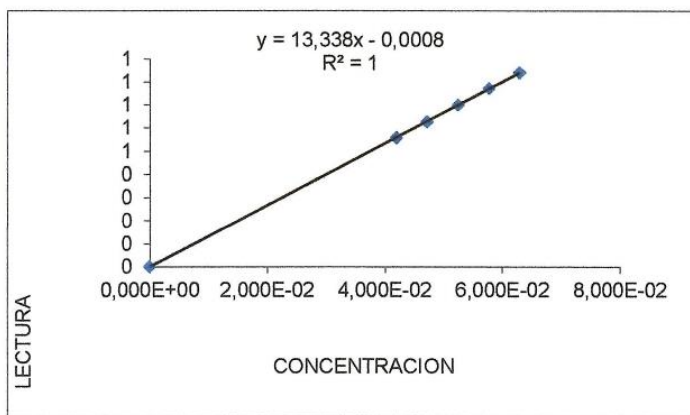
VALIDACION CUANTIFICACIÓN CBD E IDENTIFICACIÓN THC
 METODO DE ANALISIS PARA MATERIA PRIMA
 REPORTE DE LINEALIDAD DEL SISTEMA (REPLICA 1)

A. INFORMACION GENERAL

INGREDIENTE ACTIVO	CBD
ORIGEN DEL METODO	INTERNO
CLASIFICACION DEL METODO ANALITICO	NO OFICIAL
ANALISTA	IVÁN RODRÍGUEZ
FECHAS DE VALIDACION	30-nov-23

B. LINEALIDAD

	Masa (mg)	26,20532
% ACTIVO	Cn (mg/mL)	CBD/Anetol
0	0,000E+00	0
80	0,0419	0,5578
90	0,0472	0,6250
100	0,0524	0,6991
110	0,0577	0,7704
120	0,0629	0,8385



C. CALCULOS

PENDIENTE	1,334E+01
INTERCEPTO	-7,710E-04
R2	1,0000

D. EVALUACION DE RESULTADOS

CRITERIO DE ACEPTACION

INTERCEPTO = 0
 $0,995 \leq R^2 \leq 1,00$

RESULTADO DE LA EVALUACION DE LINEALIDAD DEL SISTEMA

Revisado por

AR

Fecha:

7-12-23

VALIDACION PARA POTENCIA
METODO DE ANALISIS PARA MATERIA PRIMA
REPORTE DE LINEALIDAD DEL SISTEMA (REPLICA 2)

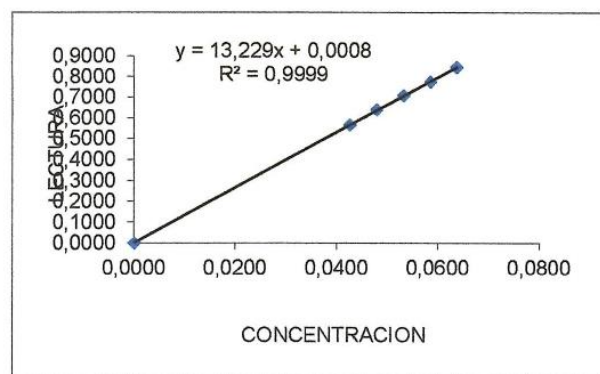
A. INFORMACION GENERAL

INGREDIENTE ACTIVO
ORIGEN DEL METODO
CLASIFICACION DEL METODO ANALITICO
ANALISTA
FECHAS DE VALIDACION

CBD
INTERNO
NO OFICIAL
IVÁN RODRÍGUEZ
30-nov-23

B. LINEALIDAD

% ACTIVO	Masa (mg)	Cn (mg/mL)	CBD/Anetol
	26,60388		
0	0,0000	0,0000	
80	0,0426	0,5626	
90	0,0479	0,6382	
100	0,0532	0,7072	
110	0,0585	0,7724	
120	0,0638	0,8436	



C. CALCULOS

PENDIENTE	1,323E+01
INTERCEPTO	7,712E-04
R2	0,9999

D. EVALUACION DE RESULTADOS

CRITERIO DE ACEPTACION

INTERCEPTO = 0
 $0,995 \leq R^2 \leq 1,00$

RESULTADO DE LA EVALUACION DE LINEALIDAD DEL SISTEMA

Revisado por

AR

Fecha:

7-12-27

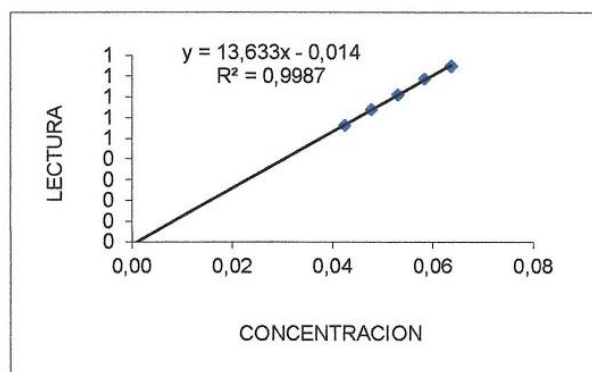
VALIDACION PARA POTENCIA
METODO DE ANALISIS PARA MATERIA PRIMA
REPORTE DE LINEALIDAD DEL SISTEMA (REPLICA 3)

A. INFORMACION GENERAL

INGREDIENTE ACTIVO	CBD
ORIGEN DEL METODO	INTERNO
CLASIFICACION DEL METODO ANALITICO	NO OFICIAL
ANALISTA	IVÁN RODRÍGUEZ
FECHAS DE VALIDACION	30-nov-23

B. LINEALIDAD

	Masa (mg)	26,50424	
% ACTIVO	Cn (mg/mL)	CBD/Anetol	
0	0,00		
80	0,042	0,5602	
90	0,048	0,6396	
100	0,053	0,7095	
110	0,058	0,7855	
120	0,064	0,8486	



C. CALCULOS

PENDIENTE	1,363E+01
INTERCEPTO	-1,400E-02
R2	0,9987

D. EVALUACION DE RESULTADOS

CRITERIO DE ACEPTACION

INTERCEPTO = 0
 $0,995 \leq R^2 \leq 1,00$

RESULTADO DE LA EVALUACION DE LINEALIDAD DEL SISTEMA

Revisado por

AR

Fecha:

7-12-27

HOMOGENEIDAD DE VARIANCIAS EN LA LINEALIDAD DE SISTEMA

A. INFORMACION GENERAL

INGREDIENTE ACTIVO
 ORIGEN DEL METODO
 CLASIFICACION DEL METODO ANALITICO
 ANALISTA
 FECHAS DE VALIDACION

MENTOL
 INTERNO
 NO OFICIAL
 IVAN RODRIGUEZ
 30/11/2023

B. DATOS EXPERIMENTALES

PORCENTAJE EVALUADO	CONCENTRACION (ppm)	FACTOR RESPUESTA SEÑAL/CONCENTRACION	PROMEDIO	DESVIACION ESTÁNDAR	DESVIACION ESTÁNDAR RELATIVA	VARIANCIA (S ²)
80	0,0419	13,3030	13,2436	0,05159	0,38954	0,15174
	0,0426	13,2172				
	0,0424	13,2105				
90	0,0472	13,2501	13,3786	0,16097	1,20317	1,44761
	0,0479	13,3265				
	0,0477	13,5592				
100	0,0524	13,3382	13,3379	0,04679	0,35078	0,12305
	0,0532	13,2909				
	0,0530	13,3845				
110	0,0577	13,3623	13,3438	0,13810	1,03494	1,07109
	0,0585	13,1973				
	0,0583	13,4716				
120	0,0629	13,3319	13,2947	0,07200	0,54160	0,29333
	0,0638	13,2117				
	0,0636	13,3404				

$$S^2_{MAX} = 1,44760770$$

$$G_{TABLAS}(\alpha=0.05; K=5; n=3) = 0,68$$

$$G_{EXP} = 0,411250$$

$$G_{EXP} = S^2_{MAX} / (S^2)$$

$$G_{EXP} = 0,411250$$

$$G_{TABLAS}(\alpha=0.05; K=5; n=3) = 0,68$$

CRITERIO DE ACEPTACION

$$G_{TABLAS}(\alpha=0.05; K=5; n=3) > G_{EXP}$$

RESULTADO DE LA EVALUACION DE HOMOGENEIDAD DE VARIANCIAS

Revisado por

AR

Fecha:

7-12-23

ROBUSTEZ CBD EN MUESTRA

A. INFORMACION GENERAL

#;REF!
 ORIGEN DEL METODO
 CLASIFICACION DEL METODO ANALITICO
 ANALISTA
 FECHAS DE VALIDACION

CBD
 INTERNO
 NO OFICIAL
 IVÁN RODRÍGUEZ
 30-nov-23

B. DATOS EXPERIMENTALES

VALIDADOR

PATRON			FD (mL)
Masa madre (mg)			500
NUMERO	Cn (mg/mL)	CBD/Anetol	
		26,3	
1	0,05241	0,70183	
2	0,05241	0,70274	
3	0,05241	0,70423	
4	0,05241	0,70822	
5	0,05241	0,70518	
X		0,052411	0,704440

MUESTRA 100%		
Masa madre (mg)		
NUMERO	Cn (mg/mL)	CBD/Anetol
		26,1
1	0,69706	0,69706
2	0,70104	0,70104
3	0,69938	0,69938

AUXILIAR PATRON			
Masa madre (mg)			
NUMERO	Cn (mg/mL)	CBD/Anetol	
		25,7	
1	0,05121	0,67688	
2	0,05121	0,68309	
3	0,05121	0,68403	
4	0,05121	0,68235	
5	0,05121	0,68388	
X		0,05121496	0,682047849

MUESTRA 100%		
Masa madre (mg)		
NUMERO	Cn (mg/mL)	CBD/Anetol
		26,8
1	0,05341	0,71827
2	0,05341	0,72770
3	0,05341	0,72525

POTENCIA 99,64

PORCENTAJE DE POTENCIA

99,35 %
 99,92 %
 99,68 %

PORCENTAJE DE POTENCIA

100,62 %
 101,95 %
 101,60 %

PROMEDIO 100,5
 DESVIACION ESTANDAR 1,06
 COEFICIENTE DE VARIACION 1,06 %

D. EVALUACION DE RESULTADOS

CRITERIO DE ACEPTACION MENOR QUE 2%

Revisado por

AR

Fecha:

7-12-23

VALIDACION CUANTIFICACIÓN CBD E IDENTIFICACIÓN THC
 METODO DE ANALISIS PARA MATERIA PRIMA
 REPORTE DE EXACTITUD AL 80%

A. INFORMACION GENERAL

INGREDIENTE ACTIVO	CBD
ORIGEN DEL METODO	INTERNO
CLASIFICACION DEL METODO ANALITICO	NO OFICIAL
ANALISTA	IVÁN RODRÍGUEZ
FECHAS DE VALIDACION	30-nov-23

B. DATOS EXPERIMENTALES

PATRON 80%			MUESTRA 80%		
NUMERO	Cn (mg/mL)	CBD/Anetol	NUMERO	teórica (mg/	CBD/Anetol Cn real (mg/mL)
1	0,0419	0,5578	1	0,0405	0,5432 0,0402
2	0,0426	0,5626	2	0,0410	0,5471 0,0405
3	0,0424	0,5602	3	0,0416	0,5556 0,0411
	0,0423	0,5602			

C. CALCULOS

$\% = \text{Cst}/\text{Cm} * \text{Am}/\text{Ast} * \text{POT}$
 POTENCIA 99,64

Cst Cn patron
 Cm Cn muestra
 Am Area muestra
 Ast Area patron
 POT Potencia del patron

PORCENTAJE DE RECUPERACION

79,4 %	R//	99,2
79,0 %		98,8
79,0 %		98,8

RECUPERACION PROMEDIO 79,2 %

DESVIACION ESTANDAR 0,20 %

COEFICIENTE DE VARIACION 0,26 %

D. EVALUACION DE RESULTADOS

CRITERIO DE ACEPTACION

RECUPERACION PROMEDIO ENTRE 98 y 102

RESULTADO DE LA EVALUACION DE EXACTITUD DEL METODO AL 80%

Revisado por

A. Ruiz

Fecha:

7-12-23

VALIDACION CUANTIFICACION CBD E IDENTIFICACION THC
 METODO DE ANALISIS PARA MATERIA PRIMA
 REPORTE DE EXACTITUD AL 100%

A. INFORMACION GENERAL

INGREDIENTE ACTIVO	CBD
ORIGEN DEL METODO	INTERNO
CLASIFICACION DEL METODO ANALITICO	NO OFICIAL
ANALISTA	IVÁN RODRÍGUEZ
FECHAS DE VALIDACION	30-nov-23

B. DATOS EXPERIMENTALES

NUMERO	PATRON		NUMERO	MUESTRA 100%		
	Cn (mg/mL)	CBD/Anetol		Cn teórica	CBD/Anetol	Cn real
1	0,0524	0,6991	1	0,0506	0,6707	0,04970
2	0,0532	0,7072	2	0,0512	0,6832	0,05063
3	0,0530	0,7095	3	0,0520	0,6878	0,05098
	0,0529	0,7052				

C. CALCULOS

$\% = \text{Cst}/\text{Cm} * \text{Am}/\text{Ast} * \text{POT}$
 POTENCIA 99,64 %

Cst Cn patron
 Cm Cn muestra
 Am Area muestra
 Ast Area patron
 POT Potencia del patron

PORCENTAJE DE RECUPERACION

98,2 % R//
 98,9 %
 98,0 %

98,2
 98,9
 98,0

RECUPERACION PROMEDIO 98,4 %

DESVIACION ESTANDAR 0,45 %

COEFICIENTE DE VARIACION 0,46 %

D. EVALUACION DE RESULTADOS

CRITERIO DE ACEPTACION

RECUPERACION PROMEDIO ENTRE 98 y 102
 COEFICIENTE DE VARIACION MENOR QUE 3%

RESULTADO DE LA EVALUACION DE EXACTITUD DEL METODO AL 100%

Revisado por

AR

Fecha:

7-12-27

VALIDACION CUANTIFICACIÓN CBD E IDENTIFICACIÓN THC
 METODO DE ANALISIS PARA MATERIA PRIMA
 REPORTE DE EXACTITUD AL 120%

A. INFORMACION GENERAL

INGREDIENTE ACTIVO	CBD
ORIGEN DEL METODO	INTERNO
CLASIFICACION DEL METODO ANALITICO	NO OFICIAL
ANALISTA	IVÁN RODRÍGUEZ
FECHAS DE VALIDACION	30-nov-23

B. DATOS EXPERIMENTALES

NUMERO	PATRON		NUMERO	MUESTRA 120%		
	Cn (mg/mL)	CBD/Anetol		Cn teórica	CBD/Anetol	real (mg/ml)
1	0,0629	0,8385	1	0,0607	0,8066	0,0598476
2	0,0638	0,8436	2	0,0615	0,8291	0,0615215
3	0,0636	0,8486	3	0,0624	0,8328	0,0618006
	0,0635	0,8435408				

C. CALCULOS

$\% = \text{Cst}/\text{Cm} * \text{Am}/\text{Ast} * \text{POT}$
 POTENCIA 99,64 %

Cst Cn patron
 Cm Cn muestra
 Am Area muestra
 Ast Area patron
 POT Potencia del patron

PORCENTAJE DE RECUPERACION

118,2 %	R//	98,5
120,1 %		100,1
118,8 %		99,0

RECUPERACION PROMEDIO 119,1 %

DESVIACION ESTANDAR 0,97 %

COEFICIENTE DE VARIACION 0,81 %

D. EVALUACION DE RESULTADOS

CRITERIO DE ACEPTACION

RECUPERACION PROMEDIO ENTRE 98 y 102
 COEFICIENTE DE VARIACION MENOR QUE 3%

RESULTADO DE LA EVALUACION DE EXACTITUD DEL METODO AL 120%

Revisado por

AR

Fecha:

7-12-23

VALIDACION CUANTIFICACION CBD E IDENTIFICACION THC
 METODO DE ANALISIS PARA MATERIA PRIMA
 REPORTE DE PRECISION DEL METODO

A. INFORMACION GENERAL

INGREDIENTE ACTIVO	CBD
ORIGEN DEL METODO	INTERNO
CLASIFICACION DEL METODO ANALITICO	NO OFICIAL
ANALISTA	IVÁN RODRÍGUEZ
FECHAS DE VALIDACION	30-nov-23

B. DATOS EXPERIMENTALES

NUMERO	RECUPERACION	PRECISION AL 80%	
		DESVIACION ESTANDAR	COEF. VARIACION (%)
1	99,2 %	0,25 %	0,26 %
2	98,8 %		
3	98,8 %		

NUMERO	RECUPERACION	PRECISION AL 100%	
		DESVIACION ESTANDAR	COEF. VARIACION
1	98,2 %	0,45 %	0,46 %
2	98,9 %		
3	98,0 %		

NUMERO	RECUPERACION (%)	PRECISION AL 120%	
		DESVIACION ESTANDAR	COEF. VARIACION
1	98,5 %	0,81 %	0,81 %
2	100,1 %		
3	99,0 %		

C. CALCULOS

RECUPERACION PROMEDIO	98,8 %
DESVIACION ESTANDAR	0,61
COEFICIENTE DE VARIACION	0,62 %

D. EVALUACION DE RESULTADOS

CRITERIO DE ACEPTACION

COEFICIENTE DE VARIACION MENOR AL 3%

RESULTADO DE LA EVALUACION DE PRECISION DEL METODO

Revisado por

AR

Fecha:

7-12-27

VALIDACION CUANTIFICACIÓN CBD E IDENTIFICACIÓN THC
 METODO DE ANALISIS PARA MATERIA PRIMA
 REPORTE DE PRECISION DEL SISTEMA

A. INFORMACION GENERAL

INGREDIENTE ACTIVO	CBD
ORIGEN DEL METODO	INTERNO
CLASIFICACION DEL METODO ANALITICO	NO OFICIAL
ANALISTA	IVÁN RODRÍGUEZ
FECHAS DE VALIDACION	30-nov-23

B. DATOS EXPERIMENTALES

NUMERO	CBD/Anetol	Masa madre (mg)	ESTANDAR 100%	
			Cn (mg/mL)	CBD/Anetol/Cn
1	0,6991	26,2053	0,0524	13,3382
2	0,7072	26,6039	0,0532	13,2909
3	0,7095	26,5042	0,0530	13,3845
			0,0529	

PROMEDIO DE LECTURAS

0,7052

C. CALCULOS

LECTURAS PROMEDIO

0,7

DESVIACION ESTANDAR

0,01

COEFICIENTE DE VARIACION

0,78 %

D. EVALUACION DE RESULTADOS

CRITERIO DE ACEPTACION

COEFICIENTE DE VARIACION MENOR AL 3%

RESULTADO DE LA EVALUACION DE PRECISION DEL SISTEMA

Revisado por

AR-12

Fecha:

7-12-23

VALIDACION CUANTIFICACIÓN CBD E IDENTIFICACIÓN THC
 METODO DE ANALISIS PARA MATERIA PRIMA
 RESULTADO DE LA VALIDACION

A. INFORMACION GENERAL

INGREDIENTE ACTIVO	CBD
ORIGEN DEL METODO	INTERNO
CLASIFICACION DEL METODO ANALITICO	NO OFICIAL
ANALISTA	IVÁN RODRÍGUEZ
FECHAS DE VALIDACION	30-nov-23

B. ESPECIFICIDAD

PROMEDIO DE LECTURAS PLACEBO	0,00
DESVIACION ESTANDAR	0,00
PROMEDIO DEL LECTURAS PATRON	0,68
DESVIACION ESTANDAR	0,02
PORCENTAJE DEL PLACEBO EN TABLETAS	0,00 %
RESULTADO	0,000

C. LINEALIDAD DEL METODO

PENDIENTE	1,332E+01
INTERCEPTO	-2,112E-05
COEFICIENTE DE CORRELACION	0,9999
RESIDUALES	0,00
RESULTADO	0,000

D. LINEALIDAD DEL SISTEMA

PENDIENTE	1,340E+01
INTERCEPTO	-4,667E-03
COEFICIENTE DE CORRELACION	0,9995
RESIDUALES	0,00
RESULTADO	0,000

E. EXACTITUD AL 80, 100 Y 120%

EXACTITUD AL 80%	
RECUPERACION PROMEDIO	79,2 %
DESVIACION ESTANDAR	0,20 %
COEFICIENTE DE VARIACION	0,26 %
RESULTADO	0,000

AR 7-12-27

EXACTITUD AL 100%	
RECUPERACION PROMEDIO	98,4 %
DESVIACION ESTANDAR	0,45
COEFICIENTE DE VARIACION	0,46 %
RESULTADO	0,000
EXACTITUD AL 120%	
RECUPERACION PROMEDIO	119,1 %
DESVIACION ESTANDAR	0,97
COEFICIENTE DE VARIACION	0,81 %
RESULTADO	0,000
F. PRECISION DEL METODO	
RECUPERACION PROMEDIO	98,8 %
DESVIACION ESTANDAR	0,61
COEF. DE VARIACION TOTAL	0,62 %
RESULTADO	0,0
G. PRECISION DEL SISTEMA	
LECTURAS PROMEDIO	0,0
DESVIACION ESTANDAR	0,01
COEF. DE VARIACION TOTAL	0,78 %
RESULTADO	0,0
RESULTADO DE LA VALIDACION DEL METODO	
Revisado por <i>ARJ2</i>	APROBADO Fecha: <i>7-12-27</i>

VALIDACION CUANTIFICACION CBD E IDENTIFICACION THC
 METODO DE ANALISIS PARA MATERIA PRIMA
 TABLA DE RESULTADOS DE LA VALIDACION

A. INFORMACION GENERAL

INGREDIENTE ACTIVO	CBD
ORIGEN DEL METODO	INTERNO
CLASIFICACION DEL METODO ANALITICO	NO OFICIAL
ANALISTA	IVÁN RODRÍGUEZ
FECHAS DE VALIDACION	30-nov-23

B. RESULTADOS

UNIFORMIDAD	
PRUEBA	RESULTADO
Exactitud	Conforme
Precisión Sistema	Conforme
Precisión Método	Conforme
Especificidad	Conforme
Linealidad Método	Conforme
Linealidad Sistema	Conforme

CONCLUSIONES

EL METODO ESTA VALIDADO

Hecho por:

AR

Revisado por:

7-12-23

Anexo 9. Portada del protocolo de validación del método analítico planteado

LABORATORIOS ZEPOL, S.A.
PROTOCOLO DE VALIDACIÓN PARA MÉTODOS ANALÍTICOS
CÓDIGO PRO-ANA-2023-001 VERSION 01

Protocolo de validación de método analítico

Método analítico de identificación
de TCH y cuantificación de CBD en
CBD materia prima por
cromatografía líquida de alta
resolución (HPLC)

CÓDIGO: PRO-ANA-2023-001



LABORATORIOS
ZEPOL S.A.

Anexo 10. Portada del Reporte de validación del método analítico planteado

LABORATORIOS ZEPOL, S.A.
REPORTE PROTOCOLO DE VALIDACIÓN PARA MÉTODOS ANALÍTICOS
CODIGO PRO-ANA-2023-001 VERSIÓN 01

Reporte de protocolo de Validación del Método Analítico

Nombre del Método	Método analítico de identificación de TCH y cuantificación de CBD en CBD materia prima por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)
Código del Documento	PRO-ANA-2023-001

