

## DESARROLLO DE MATERIAL DE REFERENCIA CERTIFICADO DE $\Delta^9$ -TETRAHIDROCANNABINOL PARA CANNABIS MEDICINAL

I. Hernández<sup>(1)</sup>, A. Bellomo<sup>(1)</sup>, I. Lobatto<sup>(2)</sup>, J. Molinari<sup>(2)</sup>, C. Alberti<sup>(2)</sup>, L. Santos<sup>(3)</sup>, M. Puelles<sup>(3)</sup>, P. Sánchez<sup>(3)</sup>, L. Gallelo<sup>(3)</sup>, F. Raco<sup>(3)</sup>, L. Gandolfi<sup>(1)(6)</sup>, J. Comin<sup>(4)(6)</sup>, P. Gatti<sup>(3)</sup>, L. Hermida<sup>(5)</sup> y E. Elhalem<sup>(1)(6)</sup>.

[elhalem@inti.gov.ar](mailto:elhalem@inti.gov.ar), [insantos@inti.gov.ar](mailto:insantos@inti.gov.ar)

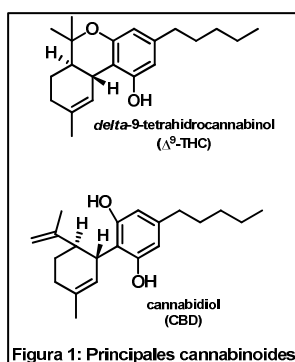
<sup>(1)</sup>Dto. Ingredientes Activos y Biorrefinería-SOLyS-GODTel-INTI, <sup>(2)</sup>Dto. Desarrollo Analítico y Control del Proceso-SOLyS-GODTel-INTI, <sup>(3)</sup>Dto. Metrología en Ambiente y Salud-DT Metrología Química-SOMCel-GOMyC-INTI, <sup>(4)</sup>Dto. Red de Laboratorios Lácteos-DT Metrología Química-SOMCel-GOMyC-INTI, <sup>(5)</sup>Gerencia Operativa de Desarrollo Tecnológico e Innovación, <sup>(6)</sup>SOMCel, <sup>(7)</sup>SOyS, <sup>(8)</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)

Instituto Nacional de Tecnología Industrial (INTI), B1650WAB San Martín, Buenos Aires, Argentina

**Palabras Clave:** cannabinoides; desarrollo metrológico; estándares

### INTRODUCCIÓN

Actualmente existe una gran demanda de productos derivados de la planta de *Cannabis Sativa L*, siendo una de las problemáticas principales la dificultad para adquirir estándares de referencia de los cannabinoides que permitan controlar la calidad de estos productos. Uno de los puntos críticos es el control de la concentración de  $\Delta^9$ -tetrahidrocannabinol ( $\Delta^9$ -THC), el principal componente psicoactivo en productos de cannabis medicinal, por lo que se requiere con urgencia un estándar de este cannabinoide (Figura 1). El INTI como Instituto Metrológico Nacional, tiene la facultad de producir Materiales de Referencia Certificados (MRC). Con este proyecto se pretende desarrollar materiales de referencia certificados nacionales de los cannabinoides más relevantes, para ser utilizados por organismos de control, grupos de investigación, laboratorios públicos y privados. En este trabajo se presentan los resultados que condujeron al desarrollo del primer MRC de THC nacional y que estará comercialmente disponible para todo el país y la región [1].



### OBJETIVOS

Desarrollar Materiales de Referencia Certificados (MRC) de cannabinoides con interés terapéutico, para la emplearse en la validación de metodologías analíticas, controles de proceso y en la caracterización de productos derivados.

### DESARROLLO

En este proyecto se trabajó con un lote de inflorescencias de *Cannabis sp*, altas en THC (DN-1306), provisto por una ONG de Mar del Plata, mediante un convenio con INTI. Cabe aclarar que el INTI posee un certificado emitido por ANMAT para el manejo de sustancias sujetas a control para el desarrollo de MRCs de cannabinoides.

Para poner a punto el proceso de extracción y purificación se procesaron 5 gramos del material vegetal (mv) (Figura2). El proceso de extracción y purificación consta de 3 etapas principales:

1. Descarboxilación en estufa de vacío.
2. Extracción con etanol en caliente utilizando como equipo el Acelerated Solvent Extractor System, ASE 350 (Dionex).
3. Purificación por cromatografía flash en fase normal [2][3].



Figura 2: Procesamiento de flores de *Cannabis sp*.

El control de proceso para cada etapa se realizó por HPLC-UV y/o CG-MS. Se tomó como criterio para aceptación del lote que tuviera pureza por normalización de áreas superior a 98%. La estructura química se

verificó mediante diferentes experimentos de resonancia magnética nuclear (RMN).

La pureza del material candidato se obtuvo mediante Resonancia Magnética Nuclear cuantitativa (qRMN), por ser un método primario con trazabilidad al Sistema Internacional (SI). Una vez evaluada la pureza del material mediante qRMN se preparó gravimétricamente una solución del extracto purificado en metanol anhidro que fue fraccionada en viales de vidrio color ámbar de 5 ml, con septa de teflón y cierre con tapa de aluminio (Figura 3).



Figura 3: MRC de  $\Delta^9$ -THC 1000µg/ml

El lote piloto preparado se sometió a estudios para evaluar la homogeneidad y la estabilidad. Los estudios de estabilidad se realizaron con muestras almacenadas en las condiciones de transporte a 25°C (corto plazo) y en las condiciones de almacenamiento a 4°C (largo plazo) siguiendo los lineamientos de las regulaciones internacionales [4][5]. Los análisis de homogeneidad y estabilidad del lote se realizaron por HPLC-DAD, empleando un equipo Agilent Technologies 1260 Infinity, equipado con una columna ODS de 250 mm x 4,6 mm y 5 µm de tamaño de partícula. La fase móvil empleada para la elución es 26% de H<sub>2</sub>O: 74% de CH<sub>3</sub>CN, empleando un (λ) de 228 nm y temperatura de horno de columna de 35 °C.

### RESULTADOS

A partir de 50 gramos de materia vegetal se obtuvieron 2,2 g del extracto purificado para producir el candidato a MRC. La pureza obtenida por qRMN fue de **95,7 g/100g** con una **U: 0,7 g/100g** (k=2). El lote resultó homogéneo, y estable en el período y condiciones evaluadas. Finalmente, se combinaron las diferentes fuentes de incertidumbre para determinar la incertidumbre global. El valor asignado al MRC **032** fue de **998 µg/ml** con una **U: 35 µg/ml** (k=2).

En mayo de 2022, se distribuyeron las primeras 10 unidades del primer lote de MRC de  $\Delta^9$ -THC

a laboratorios de diferentes regiones del país pertenecientes a la Red Argentina de Cannabis Medicinal (RACME) y centros regionales de INTI (Figura 4) con sus correspondientes Certificado de Análisis y Hoja de Seguridad.



Figura 4: Lanzamiento lote piloto MRC de  $\Delta^9$ -THC

<https://www.argentina.gob.ar/noticias/el-inti-impulsa-el-desarrollo-de-la-industria-del-cannabis-medicinal-y-el-canamo-industrial>

### DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Este desarrollo es el resultado de la complementación de capacidades de trabajo del INTI y la existencia de equipos de trabajo especializados en distintas áreas trabajando en conjunto por un objetivo en común.

En mayo del corriente año se obtuvo y distribuyó el primer Material de Referencia Certificado de  $\Delta^9$ -tetrahidrocannabinol a nivel nacional (lote piloto), como parte de un proyecto más amplio y ambicioso que busca cubrir la demanda actual de patrones de distintos cannabinoides.

Actualmente nos encontramos desarrollando un MRC de cannabidiol (CBD), otro de los cannabinoides más relevantes presentes en la planta de *Cannabis sp.*

Índice TRL: 5

### AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue realizado con el apoyo de INCALIN-UNSAM.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- [1] Callado Koldo, "Cuestiones de interés en torno a los usos terapéuticos del cannabis" COLECCIÓN DERECHOS HUMANOS; 2012.
- [2] Moreno, T.; Dyer, P.; Tallon, S. "Cannabinoid Decarboxylation: A Comparative Kinetic Study". *Ind. Eng. Chem. Res.* 2020, 59 (46), 20307–20315
- [3] Olejar, K. J.; Hatfield, J.; Arellano, C. J.; Seifried, D.; Heuvel, B. Vanden; Kinney, C. A. "Thermo-Chemical Conversion of Cannabis Biomass and Extraction by Pressurized Liquid Extraction for the Isolation of Cannabidiol". *Ind. Crops Prod.* 2021, 170.
- [4] ISO GUIDE 35:2017 Reference Materials — Guidance for Characterization and Assessment of Homogeneity and Stability.
- [5] ISO 17034 - General Requirements for the Competence of Reference Material Producers.