

ANÁLISIS DE CANNABINOIDES MEDIANTE HPLC-DAD EN PRODUCTOS DE CONSUMO HUMANO EN MÉXICO

Mariana G. Saucedo-Lara¹, José T. Pérez-Urizar², Ana P. Huerta-García³, Rogelio Flores-Ramírez⁴, Gamaliel Benítez-Arvizú⁵, Luz E. Alcántara -Quintana^{4*}.

1. Posgrado en Ciencias Farmacológicas. Facultad de Ciencias Químicas. Av. Dr. Manuel Nava No.6 - Zona Universitaria, C.P. 78210, San Luis Potosí, S.L.P.
2. Facultad de Ciencias Químicas. Av. Dr. Manuel Nava No.6 - Zona Universitaria, C.P. 78210, San Luis Potosí, S.L.P., México.
3. Centro de Biociencias. Carretera San Luis - Matehuala Km. 14.5, Ejido Palma de la Cruz, 78321. Soledad de Graciano Sánchez, S.L.P.
4. Coordinación para la Innovación y Aplicación de la Ciencia y la Tecnología. Av. Sierra Leona 550-Lomas Segunda Sección, 78210 San Luis, S.L.P
5. Centro Médico Nacional Siglo XXI. Av. Cuauhtémoc 330, Doctores Cuauhtémoc, CP 06720, Ciudad de México, CDMX.

* Correspondencia: Luz E. Alcántara -Quintana. Coordinación para la Innovación y Aplicación de la Ciencia y la Tecnología. Av. Sierra Leona 550-Lomas Segunda Sección, 78210 San Luis, S.L.P. luz.alcantara@uaslp.mx, lealcantara@secihti.mx

Resumen

La *Cannabis sativa* es una planta medicinal utilizada actualmente con fines terapéuticos; su popularidad va en aumento debido a los efectos benéficos que la ciencia ha atribuido a sus compuestos cannabinoides bioactivos. Con el tiempo, ha incrementado la comercialización de sus productos de venta libre para consumo y uso humano derivados del cannabis. Sin embargo, esto es interesante y alarmante, ya que el análisis de diferentes productos comerciales ha demostrado que las etiquetas no son siempre correctas y a veces incluso reflejan concentraciones erróneas de cannabinoides. En este estudio, se desarrolló y validó un método analítico de cromatografía líquida de alta eficacia acoplado a una matriz de diodos (HPLC/DAD) que permitió el análisis de siete de los cannabinoides esenciales de cremas y aceites comerciales. En este estudio, se identificó que existe una diferencia en las concentraciones de cannabinoides en productos comerciales respecto a lo reportado en su etiquetado. Entre nuestros resultados, cabe destacar que el 12% de los productos superaba el límite permitido para el Tetrahidrocannabinol (THC). Para el Cannabidiol (CBD), se encontró un 33% con concentraciones etiquetadas muy superiores a lo que contenían. Esto podría perjudicar a los consumidores al mantener un posible riesgo para la salud al superar las concentraciones permitidas de determinados cannabinoides y disminuir la eficacia de dichos productos al contener concentraciones más bajas de cannabinoides con efectos terapéuticos

Palabras clave: Cannabis; Cannabinoides; Consumo humano; THC; CBD; HPLC-DAD

Abstract

Cannabis sativa is a medicinal plant currently used for therapeutic purposes; its popularity is increasing due to the beneficial effects that science has attributed to its bioactive cannabinoid compounds. Over time, it has increased the commercialization of its over-the-counter products for human consumption and use derived from cannabis. However, this is both interesting and alarming, as analysis of different commercial products has shown that labels are not always correct and sometimes even reflect erroneous concentrations of cannabinoids. In this study, a high-performance liquid chromatography analytical method coupled to a diode array (HPLC/DAD) was developed and validated that allowed the analysis of seven of the essential cannabinoids in creams, oils and commercial products. In this study, it was identified that there is a difference in the concentrations of cannabinoids in commercial products with respect to what is reported in their labeling. Among our results, 12% of the products exceeded the permitted limit for Tetrahydrocannabinol (THC). For Cannabidiol (CBD), 33% were found with labeled concentrations well above what they contained. This could harm consumers by maintaining a potential health risk by exceeding the permitted concentrations of certain cannabinoids and decrease the efficacy of such products by containing lower concentrations of cannabinoids with therapeutic effects.

Keywords: Cannabis; Cannabinoids; Human consumption; THC; CBD; HPLC-DAD

INTRODUCCIÓN

Cannabis sativa L es una planta medicinal utilizada en todo el mundo desde hace miles de años, con diferentes usos y diversos fines^{1,2}. Cannabis contiene una variedad de fitoquímicos, entre los que destaca los cannabinoides, que son los principales componentes biológicamente activos de la planta; los más estudiados son el tetrahidrocannabinol (THC) y el cannabidiol (CBD)^{3,4}. El THC es un componente psicotrópico que está diferentemente regulado o prohibido en diferentes regiones del mundo; por otro lado, el CBD no es perjudicial para la salud, y los potenciales beneficios que se han estudiado lo convierten en una opción terapéutica para diversas enfermedades^{5,6}. Con el tiempo, se han desarrollado diferentes marcas comerciales de soluciones farmacéuticas orales derivadas de compuestos cannabinoides, y se ha producido un aumento en la comercialización sin receta de productos para consumo y uso humano derivados del cannabis^{8,9}. Sin embargo, esto resulta interesante y alarmante, dado que el análisis de diferentes productos comerciales, ha demostrado que las etiquetas no siempre son correctas y, en ocasiones, llegan a reflejar concentraciones erróneas de cannabinoides⁸. En un estudio en el que participaron 88 productos líquidos de CBD, incluidos aceite y líquido para vaporizar, comercializados por 31 empresas diferentes, los niveles medios de CBD eran de 9.45 mg/mL, inferiores a los indicados en el etiquetado (15.00 mg/mL). Mientras que el aceite que contenía CBD para ser consumido por vía oral estaba mal etiquetado en el 55% de los casos¹⁰. Un informe sobre compras en línea de productos con CBD informó de que el 43% de los productos estaban mal etiquetados (reportando menos concentración) y el 26% reportaba una mayor concentración de CBD. Al mismo tiempo, se detectaron cantidades significativas de THC en el 21% de estos aceites,

cuando el etiquetado mostraba ausencia de THC en dichos productos^{11,12}.

Meng, Q y colaboradores en 2018, utilizaron un método validado por la agencia reguladora estadounidense, la Food Drugs and Administration (FDA), analizaron cannabinoides en productos comercializados en Canadá que incluían aceites, cremas y cosméticos; descubrieron que, de los productos analizados, dos no cumplían las restricciones regulatorias federales sobre el contenido de THC (<10 µg/g) con concentraciones de 337 y 20.01 µg/g, mientras que para el CBD, muchos productos contenían niveles más bajos que los reportados¹³. En otro estudio realizado por Spindle y colaboradores en 2022, analizaron productos de aplicación tópica con cannabinoides que se encontraban disponibles comercialmente; de los 89 productos que indicaban una cantidad total de CBD en la etiqueta, el 18% estaban mal etiquetados, con concentraciones mayores (es decir, contenían >10% de CBD que lo anunciado) y el 58% estaban con concentraciones menores, es decir contenían <10% de CBD que lo anunciado. Se detectó THC en el 35% de los productos, aunque estaban etiquetados como libres de THC².

Resulta entonces esencial cuantificar el perfil de cannabinoides para garantizar la uniformidad y la calidad de los preparados. Esto lleva a utilizar métodos analíticos que puedan cumplir los requisitos normativos actuales y ser adaptables a los requisitos futuros para analizar los cannabinoides en general^{14,15}.

Es fundamental implementar métodos de control de calidad para que los consumidores puedan estar seguros de que lo que están consumiendo tendrá los efectos deseados^{11, 16, 17, 18}. La cromatografía líquida de alta resolución se utiliza principalmente para la identificación de perfiles de cannabinoides en plantas de cannabis y productos comestibles o tópicos

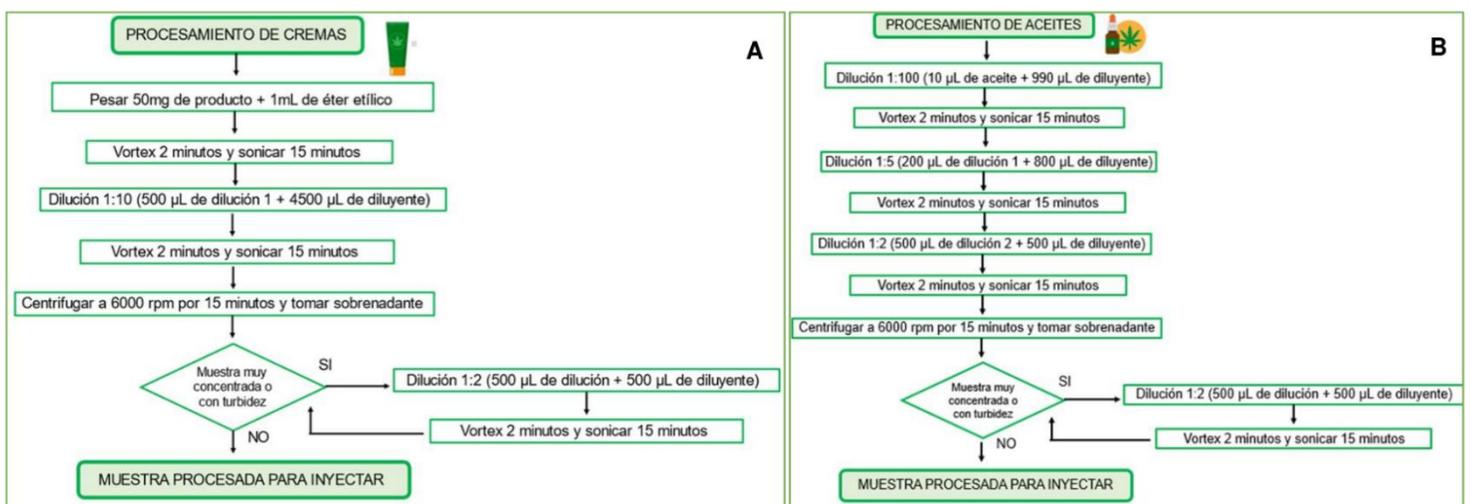


Figura 1. Diagrama de procesamiento de las muestras en (A) cremas y en (B) aceites por la metodología de HPLC-DAD. Muestra paso por paso la metodología empleada.

Tabla 1. Linealidad de los cannabinoides.

Cannabinoides	Concentración (µg/ml)	% Recuperación	%CV	R2	Ecuación de la línea
CBDV	2 – 25	94.53 - 109 %	< 13.09 %	0.996	$Y = 302.81x + 12.483$
CBG	2 – 25	95.20 - 108.03 %	< 14.62 %	0.998	$Y = 242.87x + 88.214$
CBD	2 – 25	92.02 - 110.13 %	< 14.71 %	0.998	$Y = 248.26x + 31.59$
THCV	2 – 25	96.21 - 106.40 %	< 14.39 %	0.997	$Y = 305.56x + 157.61$
CBN	2 – 25	96.06 - 118.37 %	< 12.96 %	0.998	$Y = 517.15x + 47.209$
THC	2 – 25	94.80 – 106.60 %	< 9.51 %	0.998	$Y = 550.03x + 3.6484$
CBC	2 – 25	94.17 – 108.08 %	< 14.90 %	0.994	$Y = 332.19x - 137.91$

CBDV: Cannabidivarina, CBG: Cannabigerol, CBD: Cannabidiol, THCV: Tetrahidrocannabivarina, CBN: Cannabinol, THC: Tetrahidrocannabinol, CBC: Cannabicromeno

derivados de la planta. En este artículo analizamos la variabilidad de las concentraciones de cannabinoides de diferentes productos para uso y consumo humano en relación con su etiquetado utilizando un método HPLC-DAD desarrollado y validado con la ayuda de informes previos¹⁹⁻²⁴.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales y reactivos

Se utilizaron trece productos de aceite de cannabis para consumo humano por vía oral y cuatro cremas, todos ellos productos disponibles comercialmente para su compra.

Se utilizó el método de cromatografía de líquidos de alta eficacia Agilent technologies, Infinitely better, 1200 infinity series, equipado con una columna Zorbax C18, de longitud 150 mm y diámetro 4.6 mm, con tamaño de partícula de 5 µm; con un detector de arreglo de diodos (DAD), de la marca Agilent Technologies (Agilent1260 Infinity Series, Santa Clara, CA, USA).

Se adquirió un estándar de referencia: Cannabinoid Mixture (Neutrals) – 8 Component N° C219-1ML (1mg/mL), con los siguientes cannabinoides, Delta 9-tetrahydrocannabinol (D9-THC), Delta 8- tetrahydrocannabinol (D8-THC), cannabidiol (CBD), cannabigerol (CBG), cannabinol (CBN), cannabicromeno (CBC), cannabidivarina (CBDV), tetrahidrocannabivarina (THCV). Así como agua, metanol, acetonitrilo y ácido fórmico de grado HPLC.

Condiciones cromatográficas

Se inyectó un volumen de 20µL por muestra y se corrió a un caudal de 1 mL/min bajo una separación cromatográfica de tipo isocrática. La fase móvil es acetonitrilo: formiato de amonio 10 mM (pH 3.0) en una proporción de 88:12. Los cannabinoides se detectaron utilizando un detector de matriz de diodos con una longitud de ondas de absorción a 220 nm. La temperatura de la columna (Zorbax C18, longitud 150 x 4.6 mm, tamaño de partícula

de 5 µm) fue de 35°C. El tiempo de corrida fue de 6.5min.

Validación del método

La validación del método se realizó de acuerdo con las directrices de calidad del Consejo internacional sobre Armonización de Requisitos Técnicos para el Registro de Productos Farmacéuticos para Uso Humano, mejor conocida como ICH, por sus siglas en inglés y según lo establecido por la Administración de Alimentos y Medicamentos, FDA por sus siglas en inglés, dicha validación se realizó sobre matrices en aceites. Se consideraron los siguientes parámetros de medición:

- Linealidad
- Límite de cuantificación (LC)
- Límite de detección (LD)
- Repetibilidad y reproducibilidad en términos de precisión y exactitud
- Estabilidad de las muestras
 - Estabilidad automática del inyector y ciclos de congelación y descongelación
 - Corto y estable
- Efecto matriz

Preparación de la muestra

Se siguieron las especificaciones de dos publicaciones, Analakkattillam y colaboradores en 2022, y de Meng, y colaboradores, 2018. Los productos se analizaron por triplicado¹³⁻²⁵. En la Figura 1 se muestran los pasos del procedimiento para aceites y para las cremas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Linealidad

La linealidad se obtuvo a partir del promedio de 6 concentraciones por triplicado en un rango de 2 a 25 µg/mL (2, 5, 10, 15, 20 y 25

Tabla 2. Límite de cuantificación y detección de siete cannabinoides.

CANNABINOIDES	LIMITE CUANTIFICACIÓN (LC)	LIMITE DETECCION (LD)
CBDV	2 µg/mL	1 µg/mL
CBG	2 µg/mL	0.25 µg/mL
CBD	2 µg/mL	0.25 µg/mL
THCV	2 µg/mL	0.25 µg/mL
CBN	2 µg/mL	0.25 µg/mL
THC	2 µg/mL	0.25 µg/mL
CBC	2 µg/mL	0.25 µg/mL

CBDV: Cannabidivarina, CBG: Cannabigerol, CBD: Cannabidiol, THCV: Tetrahidrocannabivarina, CBN: Cannabinol, THC: Tetrahidrocannabinol, CBC: Cannabicromeno

µg/mL). Se obtuvo un $r^2 > 0.99$, un % de recuperación entre el 85 y 115 % (para concentraciones de 10-25 µg/mL) y entre un 80 – 120% (para concentraciones de 2-5 µg/mL) y finalmente, un % de coeficiente de variación (CV) inferior al 15%, en el 75% de los resultados, esto para los siete cannabinoides analizados (Tabla 1).

Límite de cuantificación y detección

El estándar distinto de cero más bajo en la curva de calibración, que presentar un porcentaje de recuperación de 20% se define como el límite de cuantificación. El nivel mínimo en el que el analito puede detectarse de manera fiable se define como límite de detección. El límite de cuantificación fue de 2 µg/mL con valores de 80–120 % para el porcentaje de recuperación respecto a la concentración nominal. Mientras que para la identificación varió el nivel mínimo al que el analito podía detectarse de forma fiable entre 0.025–1 µg/mL. La Tabla 2 muestra los resultados.

Repetibilidad en términos de precisión y exactitud

La exactitud se cumplió manteniendo un porcentaje de recuperación entre 85-115% con respecto a la concentración nominal en ≥ 5 réplicas. La precisión se cumplió manteniendo < 15 % del valor CV. Los resultados se muestran en la Tabla 3.

Reproducibilidad en términos de precisión y exactitud

La exactitud se cumplió manteniendo un porcentaje de recuperación entre 85-115% con respecto a la concentración nominal en ≥ 3 réplicas en 3 días diferentes. La precisión se alcanzó manteniendo < 15 CV (Tabla 4).

Estabilidad de las muestras

Estabilidad del inyector automático y ciclos de congelación y descongelación. Los resultados mostraron porcentajes de recuperación entre el 85–115% para los datos del autoinyector y entre 80–120 % para los ciclos de congelación-descongelación, con respecto a la concentración nominal (Tabla 5).

Para la estabilidad a corto y largo plazo, los analitos mantuvieron un porcentaje de recuperación de 85–115% respecto a la concentración nominal. Los resultados se muestran en la Tabla 6.

Efecto matriz

Se determinó por triplicado si la matriz en la que se encuentran los analitos afectaba su detección final comparando la matriz (crema y aceite) y el diluyente (metanol: agua, 80:20). La diferencia en los promedios de área no superó el ± 20 %, tomando el diluyente como el 100%. Se utilizó aceite de oliva, y la crema se basó en aceite de almendras y glicerina (Tabla 7).

Cromatografías

La Figura 2 muestra algunos cromatogramas obtenidos tras el desarrollo del método, la validación y el análisis de los siete cannabinoides en productos comerciales, así como sus tiempos de retención.

Tabla 3. Resultados de repetibilidad de los siete cannabinoides.

CBDV				
	% Recuperación	Media	Desviación E.	% CV
LC (2 µg/ml)	94.53 - 109 %	2.07	0.19	9.51
Punto bajo (7 µg/ml)	102 - 108.5 %	7.52	0.26	3.49
Punto medio (12 µg/ml)	86 - 90 %	10.58	0.42	3.98
Punto alto (18 µg/ml)	105 - 111 %	7.52	0.26	3.49
CBG				
	% Recuperación	Media	Desviación E.	% CV
LC (2 µg/ml)	95.20 - 108.03 %	1.90	0.14	7.51
Punto bajo (7 µg/ml)	101.7 - 108.2 %	7.50	0.38	5.18
Punto medio (12 µg/ml)	82.1 - 92.03 %	11.21	1.41	12.62
Punto alto (18 µg/ml)	103 - 113.3 %	19.72	0.98	4.99
CBD				
	% Recuperación	Media	Desviación E.	% CV
LC (2 µg/ml)	92.20 - 110.13 %	1.94	0.22	11.65
Punto bajo (7 µg/ml)	106.9 - 114.38 %	7.98	0.23	2.92
Punto medio (12 µg/ml)	83.41 - 90.86 %	11.17	1.33	11.98
Punto alto (18 µg/ml)	102.9 - 113.97 %	19.74	1.06	5.40
THCV				
	% Recuperación	Media	Desviación E.	% CV
LC (2 µg/ml)	96.21 - 106.40 %	1.87	0.14	7.68
Punto bajo (7 µg/ml)	102.75 - 110.00 %	7.60	0.28	3.79
Punto medio (12 µg/ml)	86.36 - 90.18 %	11.09	1.33	11.98
Punto alto (18 µg/ml)	103.01 - 112.61 %	19.78	1.07	5.45
CBN				
	% Recuperación	Media	Desviación E.	% CV
LC (2 µg/ml)	96.21 - 106.40 %	1.80	0.08	4.72
Punto bajo (7 µg/ml)	104.35 - 113.23 %	7.78	0.28	3.67
Punto medio (12 µg/ml)	88.76 - 90.52 %	10.99	0.52	4.74
Punto alto (18 µg/ml)	102.84 - 114.87 %	19.37	1.14	5.91
THC				
	% Recuperación	Media	Desviación E.	% CV
LC (2 µg/ml)	94.80 - 106.60 %	1.951	0.096	4.918
Punto bajo (7 µg/ml)	105.92 - 112.74 %	7.74	0.279	3.60
Punto medio (12 µg/ml)	80.27 - 95.71 %	11.47	1.277	11.12
Punto alto (18 µg/ml)	108.50 - 115.00 %	20.22	0.6139	3.03
CBC				
	% Recuperación	Media	Desviación E.	% CV
LC (2 µg/ml)	94.17 - 108.08 %	2.13	0.16	7.62
Punto bajo (7 µg/ml)	99.46 - 106.85 %	7.41	0.36	4.89
Punto medio (12 µg/ml)	82.23 - 89.24 %	11.03	1.30	11.84
Punto alto (18 µg/ml)	102.93 - 113.12 %	19.73	1.04	5.30

CBDV: Cannabidivarina, CBG: Cannabigerol, CBD: Cannabidiol, THCV: Tetrahidrocannabivarina, CBN: Cannabinol, THC: Tetrahidrocannabinol, CBC: Cannabicromeno

Tabla 4. Resultados de reproducibilidad de los siete cannabinoides.

CBDV				
	% Recuperación	Media	Desviación E.	% CV
Punto bajo (7 µg/ml)	86.15 – 108.05 %	6.60	0.66	10.13
Punto medio (12 µg/ml)	85.92 – 114.80 %	12.61	1.40	11.15
Punto alto (18 µg/ml)	105.34 – 112.96 %	19.65	0.55	2.82
CBG				
	% Recuperación	Media	Desviación E.	% CV
Punto bajo (7 µg/ml)	85.28 – 115.0 %	6.704	0.90	13.50
Punto medio (12 µg/ml)	87.10 – 113.90 %	12.62	1.27	10.11
Punto alto (18 µg/ml)	104.75 – 114.47 %	19.46	0.66	3.40
CBD				
	% Recuperación	Media	Desviación E.	% CV
Punto bajo (7 µg/ml)	85.31 – 108.22 %	6.72	0.90	13.39
Punto medio (12 µg/ml)	82.26 – 114.19 %	12.69	1.26	9.92
Punto alto (18 µg/ml)	102.93 – 114.57 %	19.45	0.80	4.15
THCV				
	% Recuperación	Media	Desviación E.	% CV
Punto bajo (7 µg/ml)	85.11 – 114.25 %	7.09	0.72	10.25
Punto medio (12 µg/ml)	81.27 – 111.53 %	12.43	1.11	9.0
Punto alto (18 µg/ml)	103.01 – 114.04 %	19.47	0.675	3.46
CBN				
	% Recuperación	Media	Desviación E.	% CV
Punto bajo (7 µg/ml)	86.77 – 113.23 %	6.61	0.92	13.93
Punto medio (12 µg/ml)	88.22 – 112.53 %	12.75	1.15	9.02
Punto alto (18 µg/ml)	86.43 – 113.571 %	19.66	0.66	3.36
THC				
	% Recuperación	Media	Desviación E.	% CV
Punto bajo (7 µg/ml)	93.29 – 112.74 %	6.95	0.51	7.41
Punto medio (12 µg/ml)	89.27 – 110.54 %	12.55	0.94	7.48
Punto alto (18 µg/ml)	103.36 – 113.54 %	19.48	0.67	3.45
CBC				
	% Recuperación	Media	Desviación E.	% CV
Punto bajo (7 µg/ml)	85.17 – 106.85 %	6.72	0.93	13.90
Punto medio (12 µg/ml)	86.23 – 109.47 %	12.22	1.13	9.28
Punto alto (18 µg/ml)	102.82 – 113.123 %	19.38	0.74	3.85

CBDV: Cannabidivarina, CBG: Cannabigerol, CBD: Cannabidiol, THCV: Tetrahidrocannabivarina, CBN: Cannabinol, THC: Tetrahidrocannabinol, CBC: Cannabicromeno

Tabla 5. Resultados de estabilidad en autoinyector y congelación-descongelación de los siete cannabinoides.

Cannabinoides	Control (µg/ml)	Autoinyector	Congelación - Descongelación
		Porcentaje de recuperación	
CBDV	Bajo (7)	107.03	113.0%
	Medio (12)	104.25	119.1%
	Alta (18)	98.56	83.1%
CBG	Bajo (7)	104.81	88.1%
	Medio (12)	105.09	99.0%
	Alta (18)	103.08	78.1%
CBD	Bajo (7)	102.42	89.3%
	Medio (12)	109.26	99.8%
	Alta (18)	101.27	80.1%
THCV	Bajo (7)	98.084	92.1%
	Medio (12)	107.36	92.0%
	Alta (18)	101.89	80.9%
CBN	Bajo (7)	104.91	94.2%
	Medio (12)	107.20	110.3%
	Alta (18)	101.89	88.6%
THC	Bajo (7)	105.60	92.3%
	Medio (12)	105.60	98.1%
	Alta (18)	98.70	78.8%
CBC	Bajo (7)	107.10	101.3%
	Medio (12)	103.36	109.4%
	Alta (18)	99.94	86.0%

CBDV: Cannabidivarina, CBG: Cannabigerol, CBD: Cannabidiol, THCV: Tetrahidrocannabivarina, CBN: Cannabinol, THC: Tetrahidrocannabinol, CBC: Cannabicromeno

Tabla 6. Resultados de estabilidad a corto y largo plazo de los siete cannabinoides

Cannabinoides	Control (µg/ml)	A corto plazo	A largo plazo
		Porcentaje de recuperación	
CBDV	Bajo (7)	111.93 %	11.93 %
	Alta (18)	91.28 %	90.81 %
CBG	Bajo (7)	88.53 %	88.58 %
	Alta (18)	91.78 %	91.74 %
CBD	Bajo (7)	87.51 %	87.53 %
	Alta (18)	91.12 %	91.00 %
THCV	Bajo (7)	111.77 %	111.77 %
	Alta (18)	90.87 %	91.82 %
CBN	Bajo (7)	88.63 %	89.63 %
	Alta (18)	90.00 %	88.76 %
THC	Bajo (7)	109.73 %	109.43 %
	Alta (18)	92.90 %	91.90 %
CBC	Bajo (7)	87.62 %	90.37 %
	Alta (18)	106.79 %	105.64 %

CBDV: Cannabidivarina, CBG: Cannabigerol, CBD: Cannabidiol, THCV: Tetrahidrocannabivarina, CBN: Cannabinol, THC: Tetrahidrocannabinol, CBC: Cannabicromeno

Tabla 7. Resultados del efecto matriz con aceite y crema de los siete cannabinoides

ACEITE		
Cannabinoides	Matriz	Porcentaje
CBDV	Crema	103.3 +/- 2.36 %
	Aceite	94.33 +/- 4.66 %
CBG	Crema	93.57 +/- 3.61 %
	Aceite	91.93 +/- 3.14 %
CBD	Crema	94.42 +/- 2.32 %
	Aceite	91.21 +/- 1.23 %
THCV	Crema	90.90 +/- 4.55 %
	Aceite	92.99 +/- 3.49 %
CBN	Crema	92.13 +/- 2.36 %
	Aceite	91.96 +/- 2.69 %
THC	Crema	83.72 +/- 3.14 %
	Aceite	89.78 +/- 2.00 %
CBC	Crema	92.47 +/- 3.49 %
	Aceite	85.83 +/- 2.67 %

CBDV: Cannabidivarina, CBG: Cannabigerol, CBD: Cannabidiol, THCV: Tetrahidrocannabivarina, CBN: Cannabinol, THC: Tetrahidrocannabinol, CBC:

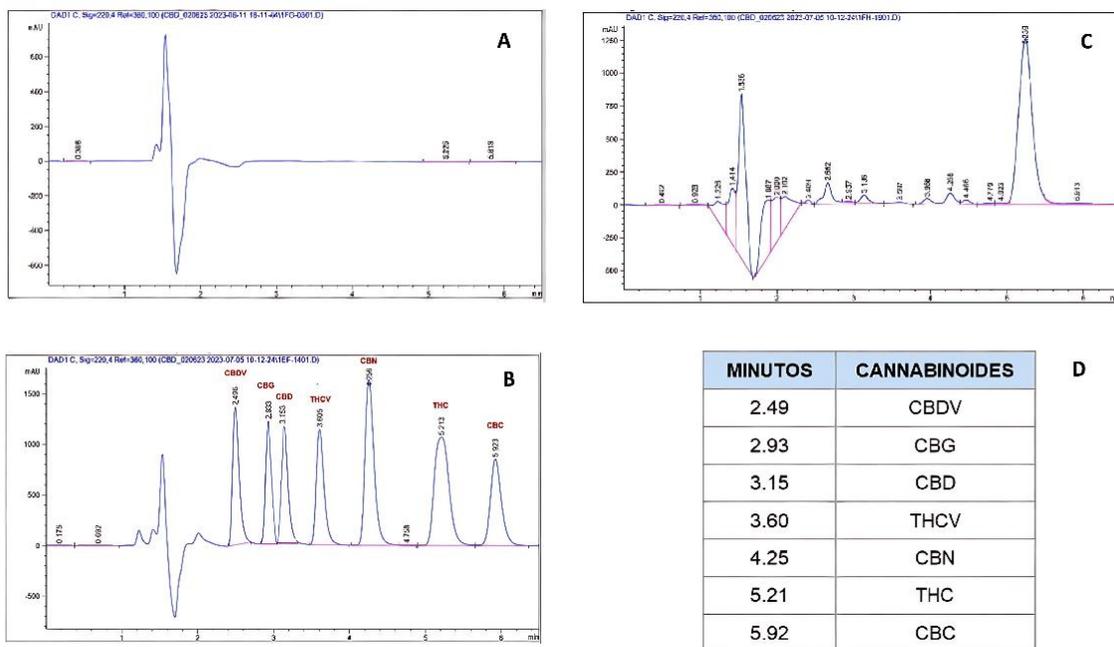


Figura 2. Cromatograma obtenido por HPLC-DAD. A) Metanol, B) Estándar 10 µg/mL, C) Producto 13, D) Tiempos de retención de los diferentes cannabinoides.

Tabla 8. Las concentraciones de cannabinoides se obtuvieron por análisis triplicado con HPLC/DAD, en relación con lo indicado en el etiquetado.

PRODUCTO	CONCENTRACIÓN ETIQUETADA	MEDIA CONCENTRACIÓN OBTENIDA (HPLC)
Aceite de cannabis sin notificar concentración	Desconocido	CBD = 2.11 +/- 0.27 mg/mL
Aceite de cannabis sin notificar concentración	Desconocido	CBD = 0.862 +/- 0.03 mg/mL
Aceite de cannabis descarboxilado, no concentración notificada	Desconocido	CBD = 4.40 +/- 0.006 mg/mL THC = Por debajo de LC
Aceite de cannabis - infusión floral	CBD = 4 mg/mL	CBD = 4.30 +/- 0.89 mg/mL
Aceite de cannabis - Cannani	CBD = 100 mg/mL	CBD = 14.31 +/- 1.74 mg/mL THC = 4.55 +/- 1.08 mg/mL
Aceite de cannabis - Cannani THCA 500 mg en 10 mL	THCA = 50 mg/mL	CBD = 4.47 +/- 1.43 mg/mL THC = 11.33 +/- 0.603 mg/mL
Tintura de cannabis - CBD Life 125 mg en 30 mL	CBD = 4.16 mg/mL	CBD = 6.67 +/- 0.87 mg/mL THC = Por debajo de LC CBN = Por debajo de LC
Aceite de cannabis - Paradise 500 mg en 30 mL	CBD = 16.6 mg/mL	CBD = 21.42 +/- 1.87 mg/mL
Bálsamo - CBD Life 50 mg en 90 g	CBD = 0.55 mg/g	CBD = 0.168 +/- 0.025 mg/g THCV = Por debajo de LC
Pomada - Paraíso 150 mg en 90 g	CBD = 1.6 mg/g	CBD = 2.21 +/- 0.41 mg/g
Aceite de cannabis - Paradise 2000 mg en 30 mL	CBD = 66.6 mg/mL	CBD = 102.18 +/- 15.83 mg/mL
Crema de cannabis sin concentración	Desconocido	CBDV = Por debajo de LC THC = Por debajo de LC
Crema de cannabis sin concentración notificada	Desconocido	CBDV = Por debajo de LC THC = 2.66 +/- 0.37 mg/g CBD = Por debajo de LC CBN = Por debajo de LC
Aceite de cannabis - Saniye. 3000 mg en 30 ml	CBD = 100 mg/mL	CBD = Por debajo de LC CBN = Por debajo de LC
Aceite de cannabis. Tintura de CBD no concentración notificada.	Desconocido	THC = Por debajo de LC
Aceite de cannabis sin notificar concentración	Desconocido	THC = Por debajo de LC
Aceite de cannabis sin notificar concentración	Desconocido	THC = Por debajo de LC

CBDV: Cannabidiarina, CBD: Cannabidiol, THCV: Tetrahidrocannabivarina, CBN: Cannabinol, THC: Tetrahidrocannabinol.

Tabla 9. Análisis porcentual de las diferencias encontradas en el etiquetado de los productos de cannabis para uso humano.

PRODUCTOS DE CANNABIS COMERCIALIZADOS			
	SIN MARCA NI ETIQUETA	R-MARCADO Y ETIQUETADO	DEL TOTAL DE PRODUCTOS
% DE PRODUCTOS	47% (8 productos)	53% (9 productos)	100% (17 productos)
Productos con CBD	62.5% (5 productos)	100% (9 productos)	82% (14 productos)
% Etiquetado insuficiente (<10%)	N/A	33% (3 productos)	17.6% (3 productos)
% Sobreetiquetado (>10%)	N/A	33% (3 productos)	17.6% (3 productos)
Etiquetado preciso	N/A	33% (3 productos)	17.6% (3 productos)
% Productos con THC	75% (6 productos)	33% (3 productos)	53% (9 productos)
% En el límite permitido	62.5% (5 productos)	22% (2 productos)	41% (7 productos)
% Supera un límite permitido	12.5% (1 producto)	11% (1 productos)	11.7% (2 productos)
% Productos con otros cannabinoides	20% (1 producto)	33% (3 productos)	23.5% (4 productos)

Concentración de los compuestos analizados

En este trabajo se analizaron diecisiete productos adquiridos en compras físicas en tiendas y/o establecimientos de México. Los resultados se muestran en la Tabla 8, y en la Tabla 9. Se identificaron las siguientes no concordancias y no cumplimientos a la normatividad. El 47% fueron productos con etiquetas, no contenían concentraciones notificadas y tampoco tenían marca registrada. De estos productos el 62.5% de ellos contenían cannabinoides por debajo del límite de cuantificación (CBD, CBDV, CBN, THC), y en general presentaron concentraciones inferiores en comparación con aquellos productos con marca registrada. Esto es relevante porque estos productos se comercializan fácilmente con falsa publicidad de contenido de cannabinoides, principalmente de CBD²⁶⁻²⁸.

Respecto a el análisis de CBD, el 100% de los productos reportaron tener únicamente este compuesto, siendo el 53% marca registrada, con una etiqueta visible con las concentraciones de CBD. Del total de los productos solo el 33% mostraron un correcto etiquetado correspondiente con lo encontrado. Otro 33% estuvieron etiquetados erróneamente con al menos un 10% por encima de lo reportado y el 33% restante con un 10% por debajo de lo etiquetado. Por lo que no cumplen los estándares establecidos para productos herbales según los estándares de la industria del cannabis.

También encontramos que más del 20% de los productos contienen cannabinoides como THCV, CBN, CBC, y CBDV, que en conjunto con el CBD podrían tener un efecto terapéutico diferente. En cuanto al THC, todos los productos analizados mostraron cuantificación de THC en su contenido, teniendo el 33% con marca registrada y 66% sin marca registrada. Del total de los productos identificados con THC, el 22.2% contenían concentraciones superiores al límite legal (menor al 1%), el resto de los productos si contenían concentraciones de THC dentro del límite permitido.

CONCLUSIONES

El incremento en la comercialización y adquisición de productos derivados del cannabis de venta libre, aunado a los antecedentes reportados de inconsistencias en el etiquetado de dichos productos, hace indispensable el control de calidad en el análisis de los mismos, por lo que en este estudio se desarrolló y validó un método analítico de HPLC/DAD tomando como referencia lo reportado por la ICH y la FDA, cumpliendo con los parámetros de linealidad, límite de cuantificación y detección, repetibilidad y reproducibilidad en términos de precisión y exactitud, estabilidad de la muestra y efecto matriz, que permitió la identificación de siete cannabinoides en productos comerciales, tanto cremas como aceites, en un tiempo máximo de 6.5 minutos. Nuestros resultados revelaron una diferencia en las concentraciones de cannabinoides en los productos comercializados en comparación con lo que se indica en su etiquetado. Es esencial destacar que el 12% de los productos superó el límite permitido para el THC, mientras que, para el CBD, el 33% estaban sobreestimados, con concentraciones etiquetadas muy superiores a las que contenían.

Esto podría tener un impacto directo en las personas que adquieran los productos, que podrían generar, por un lado, un efecto terapéutico nulo, al no alcanzar las concentraciones establecidas de CBD, o, por otro, un posible riesgo para la salud al superar el límite permitido de THC. Consideramos importante destacar que en México existe poca evidencia de la identificación y cuantificación de cannabinoides en productos comerciales de venta libre, por lo que es necesario complementar con otros métodos validados su cuantificación, este trabajo busca contribuir con desarrollo de un método, pero es necesario profundizar con otras metodologías.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos la ayuda financiera del Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (SECIHTI).

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaramos no tener conflicto de intereses.

REFERENCIAS

1. Farinon, B., Molinari, R., Costantini, L., & Merendino, N. The seed of industrial hemp (*Cannabis sativa* L.): Nutritional Quality and Potential Functionality for Human Health and Nutrition. *Nutrients*, 2020; 29;12(7): 1935. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu12071935>.
2. Spindle T, Sholler D, Cone E, Murphy T, ElSohly M, Winecker R, Flegel R, Bonn-Miller M, Vandrey R. Cannabinoid Content and Label Accuracy of Hemp- Derived Topical Products Available Online and at National Retail Stores. *JAMA Netw Open*. 2022; 1;5(7): 1-8. DOI:10.1001/jamanetworkopen.2022.230199.
3. Kis B, Chen F, Buda V, Avram S, Zinuca I, Antal D, Cannabidiol-from Plant to Human Body: A Promising Bioactive Molecule with Multi-Target Effects in Cancer. *Int. J. Mol. Sci*. 2019; 20(1): 1-24. DOI: 10.3390/ijms20235905.
4. Klumpers L & Thacker D. Breves antecedentes del cannabis: De la planta a las indicaciones médicas. *Journal of AOAC International*. 2019; 102(2). DOI: 10.5740/jaoacint.18- 0208.
5. Saucedo Lara, M. G. El aceite de cannabis es un alimento funcional que controla los niveles de colesterol y triglicéridos y mejora la presión arterial en un modelo murino. *REPOSITORIO NACIONAL CONACYT*. 2022 URI: <https://repositorioinstitucional.uaslp.mx/xmlui/handle/i/7908>.
6. Kocis P, Vrana K. Delta-9-Tetrahydrocannabinol and Cannabidiol Drug-Drug Interactions. *Med Cannabis Cannabinoids*. 2020; 7;3(1): 61-73. DOI: 10.1159/000507998.
7. Lara M, & Alcántara E. Efecto terapéutico del cáñamo sobre la hipertensión arterial y la dislipidemia en modelos murinos. *Revista Fesahancccal*, 2022. 8(1), 5-15 URI: <https://revistafesahancccal.org/index.php/fesahancccal/article/view/76>.
8. Corroon J & Kight R. Regulatory Status of Cannabidiol

in the United States: A Perspective. *Cannabis Cannabinoid Res.* 2018;3(1):190-194. DOI:10.1089/can.2018.0030

9. Crippa J, Guimarães F, Campos A, Zuardi A. Translational Investigation of the Therapeutic Potential of Cannabidiol (CBD): Toward a New Age. *Front Immunol.* 2018; 9: 2009. DOI:10.3389/fimmu.2018.02009.

10. Bakowska A, Yussef B, Hernandez E, Popek K. Suplementos dietéticos y productos cosméticos a base de cáñamo industrial. *Food and Nutraceutical Applications.* 2022; 247- 299. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90910-5.00010-5>

11. Pourseyed M, Torres S., Hooker T, Fowlie, C, Young, O & Seyfoddin, A. Métodos para la cuantificación de cannabinoides: una revisión narrativa. *Journal of cannabis research,* 2020: 2(1), 35. DOI: 10.1186/s42238-020-00040-2.

12. Salehi A, Puchalski K, Shokoohinia Y, Zolfaghari R1 y Asgary S. Differentiating Cannabis Products: Drugs, Food, and Supplements Alimentos y suplementos. *Front. Pharmacol.* 2022; 13(1): 1 - 20. DOI: 10.3389/fphar.2022.906038.

13. Zhang X, Li R, Hu W, Zeng J, Jiang X & Wang L. A reliable LC-MS/MS method for the quantification of N-acetyl-p-benzoquinoneimine, acetaminophen glutathione and acetaminophen glucuronide in mouse plasma, liver and kidney: Method validation and application to a pharmacokinetic study. *Biomed Chromatogr.* 2018; 32(11): e4331. DOI:10.1002/bmc.4331

14. McRae G & Melanson J. Quantitative determination and validation of 17 cannabinoids in Cannabis and hemp using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem.* 2020; 412(27): 7381-7393. DOI: 10.1007/s00216-020-02862-8

15. Gul W, Gul SW, Radwan MM, Wanas AS, Mehmedic Z, Khan II, Sharaf MH, ElSohly MA. Determination of 11 Cannabinoids in Biomass and Extracts of Different Varieties of Cannabis Using High-Performance Liquid Chromatography (Determinación de 11 cannabinoides en biomasa y extractos de diferentes variedades de cannabis mediante cromatografía líquida de alto rendimiento). *J AOAC Int.* 2015; 98(6): 1523-8. DOI:10.5740/jaoacint.15-095.

16. Lazarjani M, Torres S, Hooker T, Fowlie C, Young O & Seyfoddin A. Methods for Quantification of Cannabinoids: A Narrative Review. *J. Cannabis Res.* 2020; 2 (1): 1-10. DOI: 10.1186/s42238-020-00040-2.

17. Mandrioli M, Tura M, Scotti S & Toschi T. Detección rápida de 10 cannabinoides por método RP-HPLC-UV en Cannabis sativa L. *Molecules.* 2019. 4; 24(11): 2113. DOI: 10.3390/molecules24112113.

18. Franklin P & Wilcox M. Gradient HPLC-UV Method for Cannabinoid Profiling. *Cromatografía en la actualidad.* 2019; 12(3): 8210: 34-39.

19. Galettis P, Williams M, Gordon R & Martin J. A Simple

Isocratic HPLC Method for Quantitating 17 Cannabinoids. *Aust. J. Chem.* 2021, 74, 453-462. DOI: 10.1071/CH20380.

20. Gul W, Gul S, Radwan M, Wanas A, Mehmedic Z, Khan II, Sharaf M & ElSohly M. Determination of 11 Cannabinoids in Biomass and Extracts of Different Varieties of Cannabis Using High-Performance Liquid Chromatography (Determinación de 11 cannabinoides en biomasa y extractos de diferentes variedades de cannabis mediante cromatografía líquida de alto rendimiento). *J AOAC Int.* 2015; 98(6): 1523-8. DOI: 10.5740/jaoacint.15-095.

21. Hazekamp, A., Simons, R., Peltenburg A, Sengers M., Zweden, R & Verpoorte, R. Preparative Isolation of Cannabinoids from Cannabis sativa by Centrifugal Partition Chromatography. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies,* 2004; 27: 2421 - 2439. DOI:10.1081/JLC-200028170.

22. Namdar D. "Variation in the compositions of cannabinoid and terpenoids in Cannabis sativa derived from inflorescence position along the stem and extraction methods". *Cultivos y productos industriales* 113. 2018: 376-382.

DOI:10.1016/J.INDCROP.2018.01.060.

23. Namdar, Dvory. "LED lighting affects the composition and biological activity of Cannabis sativa secondary metabolites". *Cultivos y productos industriales.* 2019. DOI:10.1016/J.INDCROP-2019.02.016.

24. Analakkattillam S, Langsi V & Hanrahan, J. Analytical method validation for assay determination of cannabidiol and tetrahydrocannabinol in hemp oil-infused products by RP-HPLC. *Sci Rep.* 2022; 12: 12453. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-13737-6>.

25. Cerino P, Buonerba C, Cannazza G, D'Auria J, Ottoni E & Fulgione A. A Review of Hemp As Food and Nutritional Supplement. *Cannabis and Cannabinoid Research.* 2021; 6(1). DOI: 10.1089/can.2020.0001.

26. Chetti B & Vandelli M. Analysis of cannabinoids in commercial hemp seed oil and decarboxylation kinetics studies of cannabidiolic acid (CBDA). *J Pharm Biomed Anal.* 2018; 149: 532-540. DOI: 10.1016/j.jpba.2017.11.044.

27. U.S. Food and Drug Administration. Normativas de la FDA para la Validación de Métodos Analíticos: Importancia y Cumplimiento. *Improve Medical.* 2024. URL: <https://www.improve-medical.net/resources-4/Normativas-de-la-FDA-para-la-Validaci%C3%B3n-de-M%C3%A9todos-Anal%C3%ADticos:-Importancia-y-Cumplimiento>

28. International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use. 2023. ICH Q2(R2) Validation of analytical procedures: Scientific guideline. *European Medicines Agency.* URL: <https://www.ema.europa.eu/en/ich-q2r2-validation-analytical-procedures-scientific-guideline>