



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

**Posgrado en Ciencias Farmacobiológicas**

**“ESTUDIO COMPARATIVO DE CANNABINOIDES PARA  
CONSUMO HUMANO Y EL EFECTO IN VITRO DE SU  
ACTIVIDAD FARMACOLÓGICA EN CÉLULAS  
ENDOTELIALES”.**

Tesis que para obtener el grado de:

**Doctorado en Ciencias Farmacobiológicas**

Presenta:

**Sauceda Lara Mariana Guadalupe**

Director de Tesis: **Dr. José Trinidad Pérez Urizar**

Codirector de Tesis **Dra. Luz Eugenia Alcántara Quintana**



REPOSITORIO INSTITUCIONAL



## **UASLP-Sistema de Bibliotecas**

### **Repositorio Institucional Tesis Digitales Restricciones de Uso**

#### **DERECHOS RESERVADOS**

#### **PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en este Trabajo Terminal está protegido por la Ley Federal de Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos.

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde se obtuvo, mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto o con fines de lucro, reproducción, edición o modificación será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



Estudio comparativo de cannabinoides para consumo humano y el efecto in vitro de su actividad farmacológica en células endoteliales © 2026 por Saucedo Lara Mariana Guadalupe se distribuye bajo una licencia Commons Atribución-No Comercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

Este proyecto se realizó en la Coordinación para la Innovación y Aplicación de la Ciencia y Tecnología adscrito a la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, en el periodo comprendido entre agosto del 2022 a septiembre del 2026, bajo la dirección del Dr. José Trinidad Pérez Urizar y la Dra. Luz Eugenia Alcántara Quintana del trabajo “Estudio comparativo de cannabinoides para consumo humano y el efecto *in vitro* de su actividad farmacológica en células endoteliales” y fue apoyado por el Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (SECIHTI), bajo la subvención número 840192.

El programa de Doctorado en Ciencias Farmacobiologías de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí pertenece al Sistema Nacional de Posgrados de Calidad (SNP) del CONAHCYT, registro 003383. Número de la beca otorgada por CONAHCYT: 840192. Número de CVU: 1079208

Los datos del trabajo titulado “Estudio comparativo de cannabinoides para consumo humano y el efecto *in vitro* de su actividad farmacológica en células endoteliales” se encuentran bajo el resguardo del Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí (UASLP) y pertenecen a la Universidad Autónoma de San Luis Potosí.



## UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

Facultad de Ciencias Químicas

Centro de Investigación y Estudios de Posgrado

Posgrado en Ciencias Farmacobiológicas

Programa de Doctorado

Formato D15

### Solicitud de Registro de Tesis Doctorado

San Luis Potosí SLP a 18 / 09 /2026

#### Comité Académico

**En atención a: Coordinada del  
Posgrado**

Por este conducto solicito a Usted se lleve a cabo el registro de título de tesis de Doctorado, el cual quedo definido de la siguiente manera: “Estudio comparativo de cannabinoides para consumo humano y el efecto in vitro de su actividad farmacológica en células endoteliales” que desarrollará la estudiante: Mariana Guadalupe Saucedo Lara bajo la dirección y Co-dirección de: Dr. José Trinidad Pérez Urizar y Dra. Luz Eugenia Alcántara Quintana

Asimismo, le comunico que el proyecto en el cual trabajará el alumno involucrará el manejo de animales de experimentación, estudios con seres humanos o muestras derivadas de los mismos, el manejo y/o generación de organismos genéticamente modificados y requiere de aval de Comité de Ética e investigación de la FCQ.

( ) Sí debido a que: \_\_\_\_\_

( ) No

( X ) No Aplica

Sin otro particular, quedo de Usted.

**A T E N T A M E N T E**

\_\_\_\_\_  
MC Mariana Guadalupe Saucedo Lara

\_\_\_\_\_  
Dr. José Trinidad Pérez Urizar

# CARTA DE APROBACIÓN DEL COMITÉ DE ÉTICA DEL CIACYT



## COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN

13 Mayo del 2024

**M en C. Mariana Guadalupe Saucedo Lara**  
Investigador Asociado

**Asunto: DICTAMEN DEL COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN.**  
**APROBADO**

**Título del Proyecto: "ESTUDIO COMPARATIVO DE CANNABINOIDES PARA CONSUMO HUMANO Y EL EFECTO IN VITRO DE SU ACTIVIDAD FARMACOLÓGICA EN CÉLULAS ENDOTELIALES DE LA ARTERIA CORONARIA HUMANA".**

Código asignado por el Comité:

**CIACYT-CEI-008**

Le informamos que su proyecto de referencia ha sido evaluado por el Comité.

Av. Sierra Leona 550, Lomas segunda sección, San Luis Potosí, cp. 78220.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS



**Posgrado en Ciencias en Farmacobiológicas**

**“Estudio comparativo de cannabinoides para  
consumo humano y el efecto in vitro de su  
actividad farmacológica en células endoteliales**

Tesis que para obtener el grado de:

**Doctorado en Ciencias**

Presenta:

**Sauceda Lara Mariana Guadalupe**

**SINODALES:**

**Presidente: Dra Ana Patricia Huerta Gracia**

**Secretario: Dr José Trinidad Pérez Urizar**

**Vocal: Dra Luz Eugenia Alcántara Quintana**

**Vocal: Dr Rogelio Flores**

**Vocal: Dr Gamaliel Benítez**

**Suplente: Ana Karen González Palomo**

---

SAN LUIS POTOSÍ, S. L. P.

Septiembre 2026

## **INTEGRANTES DEL COMITÉ TUTORIAL ACADÉMICO**

Dr. José Trinidad Pérez Urizar: Director de tesis. Adscrito al posgrado en Ciencias Farmacobiológicas. Facultad de Ciencias Químicas. Av. Dr. Manuel Nava No.6 – Zona Universitaria, C.P. 78210. San Luis Potosí, S.L.P., México. [jpurizar@uaslp.mx](mailto:jpurizar@uaslp.mx)

Dra. Luz Eugenia Alcántara Quintana Codirectora de tesis. Adscrito a 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.

[alcantaraql@gmail.com](mailto:alcantaraql@gmail.com)

Dra. Ana Patricia Huerta García Tutor de tesis. Adscrito a Centro de Biociencias. Carretera San Luis - Matehuala Km. 14.5, Ejido Palma de la Cruz, 78321. Soledad de Graciano Sánchez, S.L.P.

[Patricia.huerta@uaslp.mx](mailto:Patricia.huerta@uaslp.mx)

Dr. Rogelio Flores Ramírez. Tutor de tesis. Adscrito a 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. [rogeliofloresram@gmail.com](mailto:rogeliofloresram@gmail.com)

Dr. Gamaliel Benítez Arvizu. Tutor de tesis. Adscrito a Centro Médico Nacional Siglo XXI. Av. Cuauhtémoc 330, Doctores Cuauhtémoc, CP 06720, Ciudad de México, CDMX. [gamaliel.benitez@imss.gob.mx](mailto:gamaliel.benitez@imss.gob.mx)



## UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

Facultad de Ciencias Químicas

Centro de Investigación y Estudios de Posgrado

Posgrado en Ciencias Farmacobiológicas

Programa de Doctorado

Formato D5

### CARTA CESIÓN DE DERECHOS

San Luis Potosí SLP a 18/ 09 /2026

En la ciudad de San Luis Potosí el día 18 del mes de septiembre del año 2026. El que suscribe Mariana Guadalupe Saucedo Lara Alumna del programa de posgrado en Ciencias Farmacobiológicas adscrito a la Facultad de Ciencias Químicas manifiesta que es autora intelectual del presente trabajo terminal, realizado bajo la dirección del Dr. José Trinidad Pérez Urizar y Dra. Luz Eugenia Alcántara Quintana cede los derechos del trabajo titulado “Estudio comparativo de cannabinoides para consumo humano y el efecto in vitro de su actividad farmacológica en células endoteliales” a la **Universidad Autónoma de San Luis Potosí**, para su difusión con fines académicos y de investigación. Los usuarios de la información no deben reproducir de forma total o parcial texto, gráficas, imágenes o cualquier contenido del trabajo si el permiso expreso del o los autores. Éste, puede ser obtenido directamente con el autor o autores escribiendo a la siguiente dirección [mariana.sauceda.lara@gmail.com](mailto:mariana.sauceda.lara@gmail.com), [jpurizar@uaslp.mx](mailto:jpurizar@uaslp.mx), [alcantaraql@gmail.com](mailto:alcantaraql@gmail.com) Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

---

Mariana Guadalupe Saucedo Lara



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ**

Facultad de Ciencias Químicas

Centro de Investigación y Estudios de Posgrado

Posgrado en Ciencias Farmacobiológicas

Programa de Doctorado

Formato D28

**Carta de Análisis de Similitud**

San Luis Potosí SLP a septiembre / 18 / 2026

**L.B. María Zita Acosta Nava**

**Biblioteca de Posgrado FCQ**

**Asunto:** Reporte de porcentaje de similitud de tesis de grado

Por este medio me permito informarle el porcentaje de similitud obtenido mediante Ithenticate para la tesis titulada “Estudio comparativo de cannabinoides para consumo humano y el efecto in vitro de su actividad farmacológica en células endoteliales” presentada por Mariana Guadalupe Saucedo Lara. La tesis es requisito para obtener el grado de Doctorado en el Posgrado en Ciencias Farmacobiológicas. El análisis reveló un porcentaje de similitud de 9% excluyendo referencias y metodología.

Agradezco sinceramente su valioso tiempo y dedicación para llevar a cabo una exhaustiva revisión de la tesis. Quedo a su disposición para cualquier consulta o inquietud que pueda surgir en el proceso.

Sin más por el momento, le envío un cordial saludo.

**A T E N T A M E N T E**

---

Dra. Claudia Escudero Lourdes

Coordinador Académico del Posgrado en Ciencias Farmacobiológica

## DEDICATORIAS Y AGRADECIMIENTOS

**A mis padres, José Luis Saucedo y Alberta Lara,** por ser el pilar más firme de mi vida, por guiarme siempre con su inmenso amor y sabiduría, y por enseñarme, con su ejemplo, el valor del esfuerzo, la perseverancia y la humildad. Gracias por cada sacrificio, por todo lo que han hecho para sacarnos adelante y por procurar siempre darnos lo mejor, incluso cuando eso ha significado anteponer nuestro bienestar al suyo. Gran parte de lo que soy se lo debo a ustedes, y cada logro en mi vida lleva un poco de todo lo que me han enseñado. Este logro también les pertenece, porque detrás de él está su amor incondicional y todo lo que han sembrado en mí.

**A mis hermanos, José Luis, Miguel y Mari Jo,** por ser compañeros de vida, por estar presentes en los momentos importantes, por sus consejos, su apoyo y tantas alegrías compartidas. Gracias por hacerme sentir que siempre cuento con ustedes. Deseo que este logro los haga sentir orgullosos, así como ustedes son una parte invaluable de mi vida, y que mi camino pueda inspirarlos a perseguir sus propios sueños con la misma ilusión y determinación.

**A mi novio, Miguel Alonso,** por su amor, su paciencia y sus palabras de aliento, que tantas veces me ayudaron a recuperar la confianza y a dar lo mejor de mí. Gracias por escucharme, por comprender mis momentos difíciles y por recordarme, con cada muestra de cariño, que no tenía que enfrentar sola los desafíos de este camino. Ha sido muy valioso saber que cuento con alguien que cree en mí, incluso en aquellos momentos en los que yo misma llegué a dudar.

**A mis familiares,** a quienes hoy llevo en el corazón y a quienes tengo la fortuna de seguir teniendo a mi lado, gracias por formar parte de mi historia. A quienes ya no están físicamente, los recuerdo con cariño y gratitud; su presencia permanece en los recuerdos, las enseñanzas y el amor que dejaron en mi vida. A quienes continúan acompañándome, gracias por sus buenos deseos, sus consejos y cada muestra de afecto que me ha alentado a seguir adelante.

**A mis asesores de posgrado**, el Dr. Urizar, la Dra. Paty, el Dr. Rogelio, el Dr. Gamaliel y la Dra. Luz, por compartir conmigo sus conocimientos, por su orientación y por la paciencia con la que me acompañaron durante este proceso. Gracias por su disposición para ayudarme a encontrar soluciones ante las dificultades y por contribuir a mi formación académica y profesional. Sus enseñanzas han sido una parte importante de este camino y de la persona y profesionista que hoy soy.

**A mis compañeros y amigos**, Jared, Carlos, Francisco, Oscar y Hannia, por todo lo que aprendí de ustedes, por las experiencias compartidas y por los momentos que hicieron más ligera y agradable mi estancia en el posgrado. Me llevo conmigo grandes recuerdos, aprendizajes y la alegría de haber coincidido con personas que hicieron de esta etapa algo mucho más significativo. Gracias por su amistad y por formar parte de esta historia que siempre recordaré con cariño.

**Y, por encima de todo, a Dios**, por acompañarme en cada paso y permitirme llegar hasta aquí. Gracias por darme la fortaleza para enfrentar las dificultades, la serenidad para aceptar los momentos de incertidumbre y la fe para seguir adelante aun cuando el camino parecía complicado. Gracias por poner en mi vida a las personas que me sostuvieron, me inspiraron y me ayudaron a crecer, y por darme la oportunidad de cumplir una meta más. Hoy miro hacia atrás y comprendo que, aunque no fue un camino fácil, cada esfuerzo, cada obstáculo y cada aprendizaje valieron la pena. Me llevo mucho más que un grado académico: me llevo experiencias que me transformaron, conocimientos que enriquecieron mi vida y personas que hicieron de este recorrido algo inolvidable.

Este logro representa mucho más que el final de una etapa académica; es también el reflejo del amor, el apoyo, las enseñanzas y la fe de quienes caminaron conmigo. A todos ustedes, gracias por ser parte de mi historia y por ayudarme a llegar hasta aquí.

## **RESUMEN**

La hipertensión arterial, una enfermedad con gran prevalencia en el mundo, causa lesiones a nivel endotelial y trae consigo un mal pronóstico a quien la padece, sin embargo, se ha demostrado que la Cannabis tiene efecto hipotensor y previene el daño endotelial. Diferentes beneficios reportados, han incrementado la comercialización de sus productos derivados y se han encontrado inconsistencias en su etiquetado afectando el efecto farmacológico final. En este estudio, se desarrolló y validó un método de Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución con Detector de Arreglo de Diodos (HPLC / DAD), para cuantificar y comparar concentraciones de cannabinoides en productos comerciales. Se optimizó un modelo de esferoides de células endoteliales de arteria coronaria humana (HACEC) y de rata espontáneamente hipertensa (SHR), para medir el efecto farmacológico de aceites de Cannabis previamente analizados. Se realizaron pruebas de viabilidad celular, apoptosis, citotoxicidad celular, actividad antioxidante y expresión de receptores cannabinoides CB1 y CB2. Se encontró que existe variación en las concentraciones de cannabinoides en productos comercializados con respecto a lo reportado en su etiquetado, esto podría perjudicar a los consumidores con un posible riesgo para la salud al superar concentraciones permitidas o bien, disminuir la eficacia al contener concentraciones más bajas de lo reportado. El modelo de esferoides de células endoteliales, permitió identificar viabilidad celular, nulo efecto citotóxico, actividad antioxidante y expresión de receptores cannabinoides como parte de los efectos farmacológicos de productos derivados de Cannabis, estos podrían ser de gran utilidad para mejorar la fisiopatología del daño endotelial.

## **PALABRAS CLAVE.**

Cannabis, cannabinoides, HPLC-DAD, endotelio, esferoides celulares.

## **ABSTRACT**

Hypertension, a highly prevalent disease worldwide, causes endothelial damage and carries a poor prognosis. However, cannabis has been shown to have a hypotensive effect and prevent endothelial damage. Various reported benefits have increased the marketing of cannabis-derived products, and inconsistencies in their labeling have been found, affecting the final pharmacological effect. In this study, a High-Performance Liquid Chromatography with Diode Array Detector (HPLC/DAD) method was developed and validated to quantify and compare cannabinoid concentrations in commercial products. A human coronary artery endothelial cell (HACEC) and spontaneously hypertensive rat (SHR) spheroid model was optimized to measure the pharmacological effect of previously analyzed cannabis oils. Cell viability, apoptosis, cytotoxicity, antioxidant activity, and CB1 and CB2 cannabinoid receptor expression tests were performed. It was found that there is variation in the concentrations of cannabinoids in commercially available products compared to what is reported on their labels. This could harm consumers, posing a potential health risk by exceeding permitted concentrations, or conversely, reducing efficacy by containing lower concentrations than reported. An endothelial cell spheroid model allowed for the identification of cell viability, no cytotoxic effect, antioxidant activity, and cannabinoid receptor expression as part of the pharmacological effects of cannabis-derived products. These findings could be highly useful for improving the pathophysiology of endothelial damage.

## **KEYWORDS:**

Cannabis, cannabinoids, HPLC-DAD, endothelium, cell spheroids.

## ÍNDICE GENERAL

|      |                                                                               |    |
|------|-------------------------------------------------------------------------------|----|
| I.   | INTRODUCCIÓN.....                                                             | 16 |
| II.  | ANTECEDENTES .....                                                            | 20 |
|      | DIFERENTES CONCENTRACIONES DE CANNABINOIDES EN PRODUCTOS<br>COMERCIALES.....  | 20 |
|      | ANÁLISIS DE CANNABIS CON HPLC. ....                                           | 21 |
|      | EFFECTOS DE CANNABINOIDES EN LA SALUD.....                                    | 31 |
|      | EFFECTOS DE CANNABINOIDES EN LA SALUD CARDIOVASCULAR .....                    | 32 |
|      | EFFECTO DE CANNABINOIDES EN HIPERTENSIÓN ARTERIAL.....                        | 33 |
|      | EFFECTO DE CANNABIS SOBRE ENDOTELIO VASCULAR.....                             | 35 |
|      | - <b>Receptores cannabinoides en endotelio</b> .....                          | 35 |
|      | <b>Actividad antioxidante a nivel endotelial</b> .....                        | 36 |
|      | ESFEROIDES CELULARES COMO MODELO DE ESTUDIO A NIVEL ENDOTELIAL .....          | 36 |
| III. | JUSTIFICACIÓN .....                                                           | 38 |
| IV.  | HIPÓTESIS .....                                                               | 39 |
| V.   | OBJETIVOS.....                                                                | 39 |
|      | • GENERAL.....                                                                | 39 |
|      | • ESPECÍFICOS.....                                                            | 39 |
| VI.  | MATERIAL Y MÉTODOS .....                                                      | 40 |
|      | TIPO Y ENFOQUE DE LA INVESTIGACIÓN. ....                                      | 40 |
|      | DEFINICIÓN DE LA MUESTRA.....                                                 | 40 |
|      | LIMITES DE ESPACIO Y TIEMPO .....                                             | 40 |
|      | DEFINICIÓN DE VARIABLES.....                                                  | 41 |
|      | CUANTIFICACIÓN DEL PERFIL CANNABINOIDE EN PRODUCTOS DE CONSUMO<br>HUMANO..... | 42 |
|      | - <b>Materiales y reactivos.</b> .....                                        | 42 |
|      | - <b>Preparación de fases móviles y diluyente.</b> .....                      | 43 |
|      | - <b>Preparación de la muestra</b> .....                                      | 44 |
|      | - <b>Condiciones cromatográficas</b> .....                                    | 47 |
|      | - <b>Validación de métodos</b> .....                                          | 49 |
| VII. | RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....                                                   | 53 |
|      | VALIDACIÓN DEL MÉTODO .....                                                   | 53 |
|      | - <b>Linealidad</b> .....                                                     | 53 |

|                                                                                                  |            |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| - Límite de cuantificación y detección.....                                                      | 57         |
| - Repetibilidad en términos de precisión y exactitud.....                                        | 57         |
| - Estabilidad de la muestra .....                                                                | 72         |
| - Efecto matriz.....                                                                             | 84         |
| CROMATOGRAMAS .....                                                                              | 86         |
| CONCENTRACIONES DE CANNABINOIDES EN LOS PRODUCTOS. ....                                          | 87         |
| <b>VIII. CONCLUSIÓN.....</b>                                                                     | <b>99</b>  |
| <b>IX. BIBLIOGRAFÍA.....</b>                                                                     | <b>100</b> |
| <b>X. RESUMEN DEL REPORTE DE SIMILITUD .....</b>                                                 | <b>111</b> |
| <b>XI. ANEXOS.....</b>                                                                           | <b>112</b> |
| <b>LIMITACIONES DEL ESTUDIO .....</b>                                                            | <b>112</b> |
| <b>ASPECTOS ÉTICOS Y DE BIOSEGURIDAD .....</b>                                                   | <b>116</b> |
| CARTA DE APROBACIÓN POR LA COMISIÓN FEDERAL PARA LA PROTECCIÓN<br>CONTRA RIESGOS SANITARIO ..... | 119        |

## **I. INTRODUCCIÓN**

Las enfermedades cardiovasculares son trastornos que afectan al corazón y los vasos sanguíneos, constituyen un grave problema de salud pública y tienden a deteriorar la calidad de vida de la población, en los últimos años la prevalencia ha aumentado y la Organización Mundial de la Salud (OMS), reporta dichas enfermedades como la primera causa de muerte en el mundo (Coronado et al., 2019, OMS., 2018,). En particular, la hipertensión arterial, contribuye a incrementar la morbilidad y mortalidad en todo el mundo (Biernacki M, et al 2018), en México, la Encuestas Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) 2023 reveló que el 29.1% cumplió criterios diagnósticos de hipertensión arterial sistémica (Campos N et al., 2023). La hipertensión arterial constituye el principal factor de riesgo para desarrollar otras complicaciones de tipo cardiovascular, razón por la cual, si no se trata a tiempo puede desencadenar otros problemas de salud, muchos de estos problemas derivados de un posterior daño de lesión endotelial (Berenguer G., 2016; Soca P., 2012).

El endotelio está conformado por células endoteliales y es un tejido que recubre el sistema vascular funcionando como una barrera de permeable entre la sangre y pared vascular, que limita el paso de moléculas, células y otros compuestos de la sangre a tejidos (Rajendran P, et al 2013; Yung LM, et al., 2006). En la figura 1, se muestra de manera representativa la localización del endotelio en la pared arterial. El endotelio también trabaja en condiciones de estrés o al percibir un cambio físico o químico, libera diversos factores vasodilatadores, anticoagulantes y antiinflamatorios como el óxido nítrico, la prostaciclina, factores con acciones proliferativas y proagregantes como el tromboxano y la endotelina (Rajendran P, et al 2013; Yung LM, et al., 2006).

Sin embargo, en condiciones patológicas, como es el caso, la hipertensión arterial crónica, se presentan daños en las células del endotelio, que trae consigo disfunción endotelial, lo que posteriormente conduce a otros estados patológicos que tienen consigo complicaciones cardiovasculares (Torres M., 2022). El daño endotelial está fuertemente asociado al estrés oxidativo y conduce a un estado vasoconstrictor,

proinflamatorio y protrombótico de la pared vascular, por lo que la sobreproducción de radicales libres está involucrado en la patogénesis de hipertensión arterial (Tykocki N, et al., 2017; Herbert S, & Stainier D, et al., 2011).

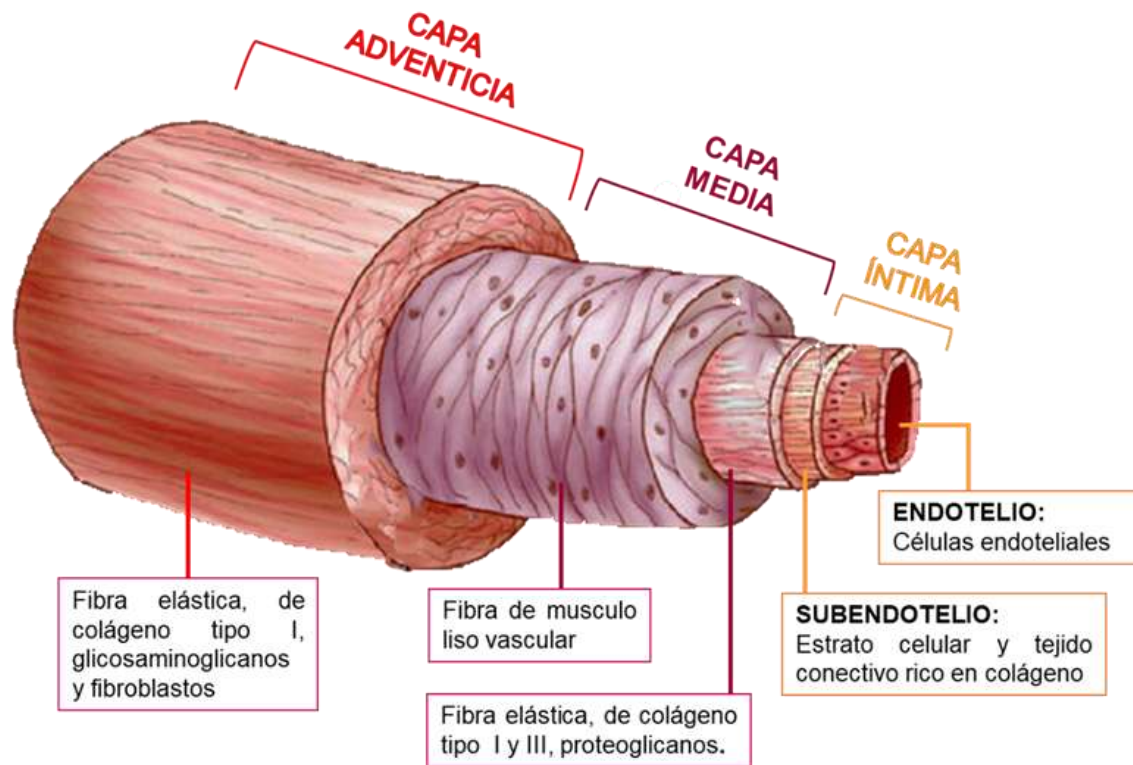


Figura 1. Conformación de las capas de la pared arterial.

Dicho lo anterior queda clara la importancia de proponer y buscar nuevos tratamientos. *Cannabis sativa L.*, es una planta medicinal que ha sido utilizada desde hace miles de años, en todo el mundo, con diferentes usos (Farinon B, et al., 2020; VanDolah, H, et al., 2019). Existen diversos estudios que exploran su potencial terapéutico (Cerino P, et al. 2021, Kicman et al., 2020, Cunha P et al., 2011), así mismo su perspectiva ha evolucionado y con el paso del tiempo se mantiene el interés por su creciente legalización del uso médico (VanDolah H, et al., 2019; León J, et al 2017). Específicamente en México se elaboró un proyecto de ley para legalización del *cannabis* revisado en 2020 y para el año 2021 se legalizó el siguiente reglamento “DOF: 12/01/2021. REGLAMENTO de la Ley General de

Salud en Materia de Control Sanitario para la Producción, Investigación y Uso Medicinal de la Cannabis y sus Derivados Farmacológicos” (León J, et al 2017).

La planta de Cannabis contiene gran variedad de alcaloides, flavonoides, fenoles no cannabinoides, terpenos y fitocannabinoides, de estos compuestos, los cannabinoides son los principales componentes activos biológicos de la planta, son compuestos terpeno-fenólicos de 21 átomos de carbono, se han identificado más de 100 (Cerino P, et al. 2021, Page R et al., 2020, Jadoon K et al., 2017; León J, et más ampliamente estudiados son el THC Tetrahidrocannabinol y el CBD Cannabidiol, CBD tiene efectos no psicoactivos por lo que ha resultado de gran interés para su estudio (Klumpers L et al., 2019, Kis B et al., 2019, Jadoon K et al., 2017). El CBD al no ser un producto nocivo para la salud es tolerado y los posibles beneficios que han sido estudiados, lo convierten en una opción terapéutica para una gama de enfermedades, incluidos los trastornos cardiovasculares (Kicman et al., 2020; Kocis P & Vrana K., 2020; Farinon B, et al., 2020; VanDolah H, et al., 2019). Diferentes efectos benéficos a la salud se han atribuido principalmente los cannabinoides, los cuales mediante la interacción con receptores cannabinoides mantiene la homeostasis del organismo interviniendo en ciertas funciones fisiológicas del mismo (Page R et al., 2020; Dvora N, et al., 2020; Martínez V et al., 2020, Klumpers L et al., 2019). Su actividad biológica puede explicarse por la interacción con el sistema endocannabinoide, donde *cannabis* ejerce sus efectos farmacológicos interactuando con los receptores CB1 y CB2, acoplados a proteínas G (Lena S. 2020; Kicman et al., 2020; Wing S.V & Kelly M 2017; Dhopeshwarkar, A., 2014 & Cunha P et al., 2011). Los receptores afines a los compuestos activos de *cannabis* se manifiestan, localizan y expresan en diferentes regiones del organismo. La presencia de ambos receptores en el organismo y su expresión puede cambiar en condiciones patológicas específicas y se ha documentado que la distribución del receptor CB1 y CB2 está estrechamente ligada a los efectos farmacológicos que producen los cannabinoides (Kicman et al., 2020; Dvora N, et al., 2020). En la figura 2, se ilustra de manera más clara como actúan los cannabinoides sobre sus receptores para producir un efecto en el organismo,

enfocando dichos efectos en condiciones cardiovasculares, específicamente como en la intervención de la hipertensión arterial.

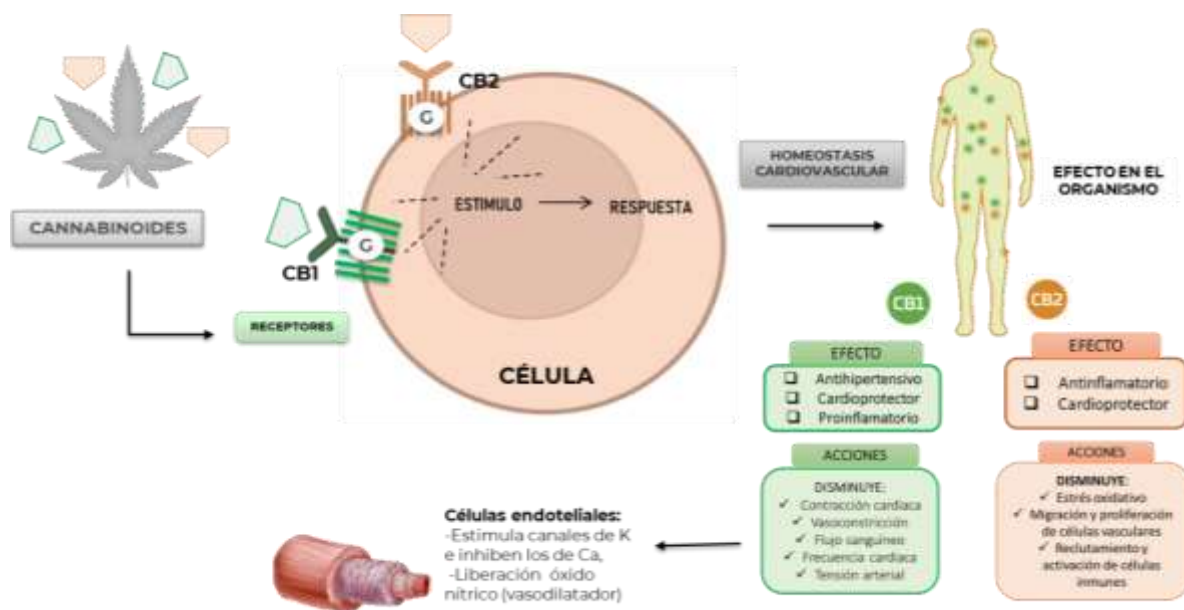


**Figura 2.** Mecanismo de acción del sistema cannabinoide sobre el sistema cardiovascular en hipertensión arterial.

## **II. ANTECEDENTES**

### **DIFERENTES CONCENTRACIONES DE CANNABINOIDES EN PRODUCTOS COMERCIALES**

El análisis de diferentes productos comerciales ha demostrado que las etiquetas no son siempre correctas y que en ocasiones llegan reflejar concentraciones erróneas de cannabinoides.

En un estudio que involucró 88 productos líquidos de CBD, incluidos aceite y líquido de vaporización, comercializados por 31 compañías diferentes, los niveles medios de CBD fueron de 9.45 mg / ml, menor en comparación con la etiquetada de (15.00mg/ml). Mientras que el aceite que contiene CBD para ser consumido por vía oral se etiquetó incorrectamente en el 55% de los casos (Bakowska A, et al., 2022).

En un informe de compras en línea de CBD se reportó que el 43% de los productos estaban subetiquetados y que el 26% estaban sobreetiquetados cuando se analizaba su concentración real de CBD. Mientras que cantidades significativas de D9THC se detectaron en 21% de estos aceites de CBD cuando se mencionaba en los productos la ausencia del compuesto psicoactivo (Salehi A, et al., 2022).

Meng Q et al en 2018, mediante un método validado según la FDA, analizaron cannabinoides en productos terminados y comercializados en Canadá que incluían aceites, cremas y cosméticos, ellos encontraron que, de los productos analizados, dos no cumplieron con las restricciones regulatorias federales sobre el contenido de THC ( $<10 \mu\text{g} / \text{g}$ ) con concentraciones de 337 y  $10.01 \mu\text{g} / \text{g}$ , mientras que para CBD, muchos de los productos contenían niveles más bajos con respecto a lo reportado (Meng Q, et al., 2018).

En otro estudio realizado por Spindle T, et al 2022, analizaron productos de aplicación tópica con cannabinoides encontrados disponibles comercialmente, de los 89 productos que enumeraban una cantidad total de CBD en la etiqueta, el 18% estaban sobreetiquetados (es decir, contenían  $>10\%$  menos de CBD de lo anunciado) y el 58% estaban subetiquetados (es decir, contenían  $<10\%$  más de

CBD de lo anunciado). Se detectó THC en 35% de los productos, aunque estaban etiquetados como libres de THC (Spindle T, et al., 2022).

#### ANÁLISIS DE CANNABIS CON HPLC.

Los métodos analíticos para la identificación y cuantificación de cannabinoides en la planta de Cannabis y productos derivados, basados en cromatografía de gases y líquidos, son de gran precisión, selectividad, linealidad, sensibilidad y precisión comparables (Salehi A, et al., 2022; McRae G, et al., 2020; Gul W, et al., 2018; Pourseyed M, et al., 2020). Por medio de cromatografía de gases no es posible la identificación de cannabinoides ácidos por estos son descarboxilados por las altas temperaturas utilizadas en este método en el puerto de inyección, razón por lo que es necesaria una previa derivatización. La cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) es una técnica para el método químico ampliamente aplicado en el área del análisis de compuestos de origen botánico para el análisis cuantitativo de cannabinoides (Salehi A, et al., 2022). HPLC es entonces más apropiado para el análisis de cannabinoides tanto de tipo ácidos como neutros, sin embargo, este método no es el indicado para el análisis de compuestos volátiles como los terpenos, que se analizan mejor en cromatografía de gases (Salehi A, et al., 2022; Lazarjani et al., 2020; Gul W, et al., 2018).

Los cannabinoides más comúnmente analizados son D9-THC, D9-THCA, CBD, CBDA y CBN, para requisitos de prueba y etiquetado de productos derivados de cannabis y para cumplir con las pautas de regulación. Sin embargo, hay muchos otros cannabinoides presentes, que también son comúnmente analizados y para los que hay estándares de referencia comercial como son el CBG, CBGA, CBNA, CBC, CBCA, THCV, THCVA, CBDV, CBDVA, CBL, CBLA y D8-THC (Salehi A, et al., 2022; McRae G, et al., 2020).

#### IMPORTANCIA DEL ANÁLISIS

Como se mencionó con anterioridad el consumo de cannabis y productos derivados, incrementa con la mayor evidencia científica que surge sobre el uso benéfico de

estos, razón por la que se vuelve importante cuantificar el perfil cannabinoide para garantizar la uniformidad y la calidad de las preparaciones. Esta situación ha dado lugar a una alta demanda de utilizar métodos analíticos que puedan cumplir con los requisitos reglamentarios actuales y ser adaptables a los requisitos futuros, para el análisis de cannabinoides en comestibles (McRae G, et al., 2020; Pourseyed M, et al., 2020). Un producto comestible con cannabis, puede tener variabilidad en la concentración de los mismos, una persona que consuma estos productos, difícilmente podrá percibir esta situación, dado a la falta de un medio o método para analizarlos, pudiendo presentar un riesgo es importante implementar métodos de control de calidad para que los consumidores puedan estar seguros de que lo que están consumiendo tendrá los efectos deseados (Pourseyed M, et al., 2020).

Se ha reportado que las concentraciones de THC son superiores al límite legal, es importante asegurar en cada producto lanzado, el perfil de, así, el personal de salud podrá estar seguro de los productos que están prescribiendo o recomendando (Hazekamp & Fishedick 2012; Gul W, et al., 2018. Meng Q, et al 2018).

## CONDICIONES DE ANÁLISIS

En la tabla 1, se muestran las condiciones de cromatografía de líquidos utilizadas por estudios previos, para el análisis de perfil cannabinoide en la materia vegetal de la planta y en diferentes productos derivados.

La cromatografía de líquidos es mayormente utilizada para la identificación del perfil cannabinoide en planta de cannabis y productos comestibles o tópicos derivados de dicha planta. Las columnas más comunes utilizadas en HPLC consisten en fases estacionarias de columnas C18 cargados con una columna protectora, las cuales tienen alta resolución y pueden diferenciar entre diferentes cannabinoides (Salehi A, et al., 2022; McRae G, et al., 2020; Namdar et al. 2019; Gul W, et al., 2018; Pourseyed M, et al., 2020; Meng Q, et al 2018; Hazekamp et al. 2009), mientras que las fases móviles consistían en su mayoría en fase A: ácido fórmico al 0,1% con agua y fase B: ácido fórmico al 0,1% con acetonitrilo o metanol (Salehi A, et al., 2022; McRae G, et al., 2020; Gul W, et al., 2018; Meng Q, et al 2018; Hazekamp et al. 2009). A excepción de Namdar y colaboradores, quienes en el 2019 utilizaron

como fase móvil 15% de ac acético en agua y en metanol, para la fase A y B respectivamente (Namdar et al. 2019). Sin embargo, el ácido fórmico en la fase móvil proporciona una mejor forma y resultados máximos que otras fases móviles y una mejor resolución en el análisis cromatográfico (Salehi A, et al., 2022; Citti et al. 2016). Finalmente, para los detectores en HPLC, algunos investigadores utilizaron detector de masas equipado con ionización por electroionización (McRae G, et al., 2020; Meng Q, et al 2018), mientras que otros utilizaron detector Ultravioleta Visible, en rangos que van desde los 220nm hasta los 400nm para los diferentes cannabinoides (Namdar et al. 2019; Gul W, et al., 2018; Hazekamp et al. 2009). Todas las revisiones mencionadas en la tabla 1, logran identificar diferentes cannabinoides en cada uno de los productos analizados, acompañado de un proceso de validación para los métodos de HPLC.

**TABLA 1. ANÁLISIS DE CANNABINOIDES POR HPLC.**

| ARTÍCULO                               | MATRIZ                                           | EQUIPO                                                                                                                | COLUMNA                                                       | CONDICIONES                                                                                                                                                                | DETECTOR                                                              | RESULTADOS.                                                                                                          |
|----------------------------------------|--------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Analakkattillam S, et al., 2022</b> | Cannabinoides en aceite de cáñamo                | RP-HPLC se realizó en un Jasco Extrema (USA) con una bomba cuaternaria, desgasificador en línea, un horno de columna. | SOLAS 100 Å C18 150 mm × 4,6 mm 5 µm).                        | Se utilizó una fase móvil de acetonitrilo y agua 75/25 con caudal isocrático de 1,5 mL/min. T° de la columna a 25 °C y la detección a 214 nm. Volumen de inyección de 20uL | Ultravioleta Visible con una longitud de onda de detección de 214 nm. | Desarrollo y validación de un método para identificar CBD y D8THC en productos infundidos a base de aceite de cáñamo |
| <b>Spindle T et al., 2022</b>          | Cannabinoides en productos de aplicación tópica. | Cromatógrafo de gases Agilent Technologies 7890 A con un MSD Agilent Technologies 5975 C y un                         | Columna Agilent Technologie 10M x 0,180 mm (película de 0,40) | Se utilizó helio como gas portador a una velocidad de flujo de 0,5 ml/minuto. El tiempo total de ejecución fue 13 min.                                                     | Espectrómetro de masas                                                | Se compararon cannabinoides en (THC, THC-A, CBD, CBD-A, D8-THC, CBC, CBDV, THCV, CBG, CBG-A, CBN) productos          |

|                               |                                         |                                                                                                                                                                   |                                                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                   |                                                                                                                                                                     |
|-------------------------------|-----------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                               |                                         | inyector automático                                                                                                                                               |                                                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                   | de aplicación tópica disponibles comercialmente con respecto a su etiquetado.                                                                                       |
| <b>McRae G, et al., 2020.</b> | Cannabinoides de la planta >2g de peso. | UpLC Agilent 1290 Infinity I Equipado con una bomba binaria, desgasificador de solvente, calentador de columna y muestreador automático de temperatura controlada | La columna era una columna Ace-3, C18-Amide, 3 µm, 100 × 2,1 mm y se controlaba a 40 °C. | Las fases móviles consistieron en (A) 100:0.1 agua:ácido fórmico y (B) 100:0.1 acetonitrilo:ácido fórmico a un caudal de 0,5 ml/min. El flujo fue de 0 - 4 min a desechos, al espectrómetro de masas de 4 - 17 min, y a residuos de 17 - 21 min. | Espectrómetro de masas triple cuadrupolo TSQ Quantiva (Thermo Scientific, San José, CA, EE. UU.), equipado con ionización por electropulverización (ESI) que funciona en modo de iones positivos. | Desarrollo y validación de un método LC-MS/MS capaz de cuantificar 17 cannabinoides (CBDV, THCV, D9THC, CDH, CBC, D8THC, CBG, CBN, CBVA, THCVA, D9THCA, CBDA, CBCA, |

|                             |                                                           |                                                                                                                                                                                 |                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                                                                                                                                  |                                                                                                                                     |
|-----------------------------|-----------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                             |                                                           |                                                                                                                                                                                 |                                                                                       | El muestreador a 4°C y el volumen de inyección de 1µL.                                                                                                                                                                                                                                        |                                                                                                                                  | CBGA, CBNA, CBLA).                                                                                                                  |
| <b>Gul W, et al., 2018.</b> | Cannabinoides de tres variedades diferentes de la planta. | Se utilizó un sistema Ultra Fast LC Prominence equipado con desgasificador, un módulo de bus de comunicaciones, un detector de matriz de fotodiodos y un calentador de columna. | Columna Luna C18 150 × 4,60 mm., tamaño de partícula de 3 µm. La t° se mantuvo a 28°C | La fase móvil consistió en (A) ácido fórmico al 0,1 % en agua y (B) ácido fórmico al 0,1 % en acetonitrilo. Elución 30% A y 70% B de 0 a 6 min; 23% A y 77% B en 6 min; 23% de A y al 77% de B por 10 min. . El caudal se mantuvo a 1,2 ml/min. Volumen de inyección fue de 10µl, automático. | Ultravioleta Visible. Los espectros UV se registraron de 210 a 400 nm y la longitud de onda de cuantificación se fijó en 220 nm. | Se identificaron 11 cannabinoides No todos en las tres variedades. (CBG, CBGA, CBD, CBDA, D9THC THCAA, D8THC, THCV, CBC, CBN, CBL). |

|                                  |                                                                                                                                          |      |                                                                                                                         |                                                                                                                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                        |                                                                                                                                |
|----------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Meng Q, et al.,<br/>2018.</b> | Identificación de cannabinoides presentes en 40 artículos disponibles en tienda de Canadá, que incluían aceite, material vegetal o crema | HPLC | Columna Agilent Eclipse Plus 95 Å C18 (4,6 x 100 mm, tamaño de partícula de 3,5 µm)<br>La t° de la columna fue de 40 °C | Fase móvil isocrática de agua (ácido fórmico al 0,1%):<br>acetonitrilo (0,1% ácido fórmico) 10:90 a un caudal de 0,5 mL/min durante 11 min.<br>El volumen de inyección fue de 20µL.<br>Inyección automática a 4°C | MASAS<br>Se utilizó un QTRAP 5500 de ABSciex equipado con una ionización por ESI en modo de iones negativos para la detección de CBDA, THCA-A y THCCOOH-d3 y en modo de iones positivos para CBD, THC, CBD-d3 y THC-d3 | Desarrollo y validación de un método para analizar cannabinoides (CDB, THC, CBDA y THCA) en matrices de productos comerciales. |
| <b>Namdar et al.<br/>2019</b>    | Cannabinoides en planta                                                                                                                  | HPLC | Columna tapada del extremo C18 con columna de protección                                                                | 15% de ácido acético en agua y metanol<br>Con un caudal de 1.5 mL/min<br>Y un volumen de inyección de 50uL                                                                                                        | Ultravioleta visible 220–280 nm                                                                                                                                                                                        | Desarrollo de un método que permite cuantificar cannabinoides                                                                  |

|                             |                                        |      |                                                           |                                                                                 |                            |                                                                                                                                                                             |
|-----------------------------|----------------------------------------|------|-----------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                             |                                        |      |                                                           |                                                                                 |                            | (CBG, CBD, THC, CBC, CBN).                                                                                                                                                  |
| <b>Galettis et al. 2021</b> | Cannabinoides en productos comerciales | HPLC | Columna C18 (4,6 x 150 mm, tamaño de partícula de 2,7 µm) | 75% de Acetonitrilo – 25% Formato de amonio 5Mm.<br>Tiempo de corrida 11minutos | Ultravioleta Visible 228nm | Desarrollo y validación de un método que permite la cuantificación de CBDVA, CBDV, CBDA, CBGA, CBG, CBD, THCV, THCVA, CBN CBNA, delta9-THC, delta8-THC, CBL, CBC THCA, CBLA |
|                             | Determinación rápida de 10             | HPLC | Columna C18 de fase                                       | Fases móviles                                                                   | Ultravioleta Visible 220nm | Desarrollo y validación de un                                                                                                                                               |

|                                    |                                                                    |      |                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                  |                            |                                                                                                                                                                                                         |
|------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|------|---------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Mandrioli et al. 2019</b>       | cannabinoides de las inflorescencias de <i>Cannabis sativa</i> L.. |      | inversa, 150 × 4.6 mm, 2.7 µm con una columna protectora 5 × 4.6 mm | <p>A: Agua con ácido fosfórico</p> <p>B: Acetonitrilo con ácido fosfórico .085%</p> <p>Gradiente</p> <p>0-3 min = 70% de B</p> <p>3-7min = 85% de B</p> <p>7-8min = 95% B</p> <p>8-10min = 70%</p> <p>Flujo = 1mL/min</p> <p>Corrida = 10min</p> |                            | <p>método RP-HPLC-UV validado permite la determinación de CBDA, CBGA, CBG, CBD, THCV, CBN, Δ-9 THC, Δ-8 THC, CBC, THCA</p> <p>Así como la clasificación legal adecuada como cáñamo o tipo de droga.</p> |
| <b>Frankiln &amp; Wilcox. 2019</b> | 17 cannabinoides bajo diferentes condiciones para                  | HPLC | Columna C18 de fase inversa, 150 × 4.6 mm, 2.7 µm                   | <p>Fases móviles</p> <p>A: Formiato de amonio 10mM pH 3.5 con ácido fórmico</p> <p>B: Acetonitrilo con 0.1% ácido fórmico</p>                                                                                                                    | Ultravioleta Visible 228nm | Desarrollaron un método de HPLC que detecta 17 cannabinoides mediante el uso                                                                                                                            |

|  |                       |  |  |                                                                                                               |  |                                                                                                                                                                                                                |
|--|-----------------------|--|--|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  | desarrollar un método |  |  | <p>Gradiente</p> <p>0min = 75% de B</p> <p>15min = 90% de B</p> <p>Flujo = 2mL/min</p> <p>Corrida = 10min</p> |  | <p>de diferentes pruebas de detección.</p> <p>La adición de formiato de amonio a la fase A móvil proporcionó una concentración optimizada, permitió la resolución de referencia de todos los cannabinoides</p> |
|--|-----------------------|--|--|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

## EFFECTOS DE CANNABINOIDES EN LA SALUD.

Estudios preclínicos y clínicos se han demostrado diferentes efectos benéficos en la salud (figura 3), atribuidos principalmente al compuesto cannabidiol (CBD) con mayor interés en su investigación por ser un compuesto terapéutico con amplio índice terapéutico, que también disminuye los efectos secundarios psicoactivos del THC, por otro lado, aunque en menor medida al Tetrahidrocannabinol también se le atribuyen efectos terapéuticos psicotrópicos (Kocis PT & Vrana KE., 2020; Klumpers L et al., 2019, VanDolah, H, et al., 2019; Crippa JA, et al., 2018; León J, et al 2017). En dichos cannabinoides, se documenta su potencial efecto analgésico, anticancerígeno, neuroprotector, antiemético, anticonvulsivante, antiinflamatorio, antiespasmódico. Siendo eficiente en el tratamiento sobre enfermedades como epilepsia, esclerosis múltiple, cáncer, Alzheimer, Parkinson, ansiedad, obesidad, enfermedad pulmonar, hígado graso, diabetes, dislipidemias, intestino inflamado, síndrome metabólico, trastornos cardiovasculares y de riñón, entre otros, así como terapia para afecciones como náuseas, vómitos, pérdida de apetito y sueño, inflamación, dolor, alteraciones en el estado de ánimo y memoria (Salehi A, et al., 2022; Kocis PT & Vrana KE., 2020; Klumpers L et al., 2019, VanDolah, H, et al., 2019; Crippa JA, et al., 2018; León J, et al 2017; Russo et al., 2014; Di Marzo et al., 2011, Costa B et al., 2007, Moore T et al., 2007). Por estos beneficios es que Cannabis resulta ser una planta prometedora para utilizarse en la terapia clínica como tónicos, analgésicos, antipiréticos, antieméticos, antiinflamatorios, antiepilépticos, agentes anticancerígenos, entre otros. (Salehi A, et al., 2022; VanDolah, H, et al., 2019; Crippa JA, et al., 2018; Russo et al., 2014).

En resumen, se ha reportado que el CBD en grandes poblaciones y durante un período prolongado de tiempo, la dosis aceptable, sin generar riesgos en la salud para la suplementación en adultos con beneficios reportados en la figura 3, puede estar comprendida entre la dosis total de 5-10 mg / día (Salehi A, et al., 2022; Dvora N, et al., 2020; VanDolah, H, et al., 2019; Crippa JA, et al., 2018; Russo et al., 2014).

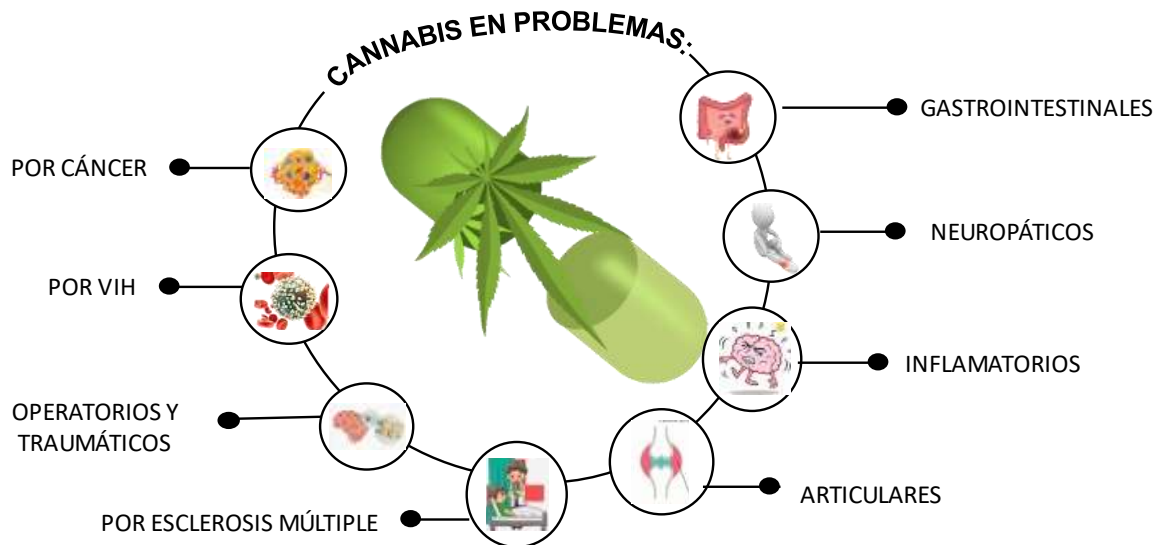


Figura 3. Terapia con cannabis mejora el pronóstico de problemas de salud.

#### EFFECTOS DE CANNABINOIDES EN LA SALUD CARDIOVASCULAR

Este potencial efecto protector del sistema cannabinoide en problemas cardiovasculares, se ha asociado a el efecto que generan compuestos cannabinoides presentes en *Cannabis*, entre estos compuestos destacan el THC y CBD por su interacción en la fisiología cardiovascular ante diferentes enfermedades, condiciones y circunstancias (Lena S. 2020, Veilleux A et al., 2019, Stanley CP, et al., 2015, Walsh SK, et al., 2010).

Compuestos cannabinoides han demostrado intervenir en la regulación de la función cardiovascular, con una mayor actividad en procesos patológicos de dicho sistema (Puhl SL, et al., 2020). Esto posiblemente asociado al prometedor enfoque terapéutico para contrarrestar la progresión de enfermedades cardiovasculares (Zuhl SL, et al., 2020; O'Sullivan, 2015).

Este enfoque terapéutico esta dado por una gran sensibilidad de cannabinoides a receptores CB1 y CB2, con efecto de agonismo y antagonismo, además resulta ser un proceso complejo pues los cannabinoides pueden activan receptores periféricos, en los cardiomiocitos y las células endoteliales o una combinación de estos, así

como involucrar al sistema nervioso central y en ciertas condiciones, las células inmunitarias (Wing S.V & Kelly M 2017; Pacher & Steffens, 2009).

#### EFFECTO DE CANNABINOIDES EN HIPERTENSIÓN ARTERIAL.

Por otro lado, el sistema cannabinoide, también ha sido estudiado como tratamiento de la hipertensión arterial, otro problema cardiovascular de gran magnitud (Cunha P et al., 2011). Se ha encontrado que dicho sistema regula a diferentes niveles la presión arterial (Biernacki M, et al 2018). Como se mencionó con anterioridad esta regulación está dada principalmente por la unión de los cannabinoides al receptor CB1, y en menor medida al receptor CB2 (Lena S. 2020, Malinowska1 B et al., 2019, O'Sullivan, 2014). Al actuar sobre estos receptores, se ha identificado que los cannabinoides, pueden actuar de diferentes maneras, disminuyendo la frecuencia y contractibilidad cardíaca, disminuyendo también la constricción coronaria, así como incrementando la vasodilatación. (Robert L. Page II, 2020, O'Sullivan, 2015, Malinowska et al., 2012, Cunha P et al., 2011). Incluso se ha visto que, en personas hipertensas, la cantidad y sensibilidad de receptores CB1 aumentan notablemente en células y tejidos del sistema cardiovascular, mismo suceso observado para el receptor CB2 (Malinowska B et al., 2019, Biernacki M 2018).

La administración de cannabinoides a distintos animales ocasionó un efecto hipotensor y vasodilatador (Jones, R, et al., 2002). Se ha encontrado que el CBD exhibe propiedades vasodilatadoras en la hipertensión, esta acción hipotensora del CBD se ha identificado principalmente en condiciones de estrés (Kiemann A et al., 2021). Los cannabinoides disminuyeron la presión arterial en roedores hipertensos principalmente debido a la disminución de la contractilidad cardíaca (Pacher P, et al., 2005). La administración aguda y prolongada de THC a roedores hipertensos, provocó una disminución de la presión arterial y la frecuencia cardíaca a largo plazo, (múltiples sitios objetivo, inhibición de los canales de calcio, activación de los canales de potasio, producción de óxido nítrico y liberación de sustancias vasoactivas (O'Sullivan, 2015; Cunha P et al., 2011; Jones, 2002). En ratas hipertensas, se encontró que existe una acción hipotensora mediada por el receptor CB1 mucho más fuerte en comparación con ratas normotensas (Toczek M, et al.,

2018). En un estudio cuando se administró como tratamiento únicamente el cannabinoide CBD no psicoactivo disminuyó la presión arterial en reposo y la presión arterial inducida por el estrés (Jadoon et al., 2017). En un estudio de Sadowska O, et al, donde administraron CBD a una dosis de 10 mg/kg/día durante tres semanas en ratas con hipertensión pulmonar, se observó una disminución en la vasoconstricción ventrículo derecho, reduciendo la presión sistólica del mismo, por lo que el CBD puede ser un tratamiento terapéutico único o adyuvante seguro para la hipertensión arterial pulmonar humana (Sadowska O, et al. 2020). En otros estudios el CBD provocó la relajación de las arterias mesentéricas humanas, la aorta de rata y las arterias femorales y mesentéricas en condiciones de normo e hipertensión (Wheal, AJ., et al. 2017; Stanley, CP., et al 2015; O'Sullivan, SE., et al 2009). En otros experimentos realizados *in vivo*, una inyección aguda de CBD redujo la presión arterial diastólica pero no la sistólica en ratas con hipertensión arterial (Remiszewski et al., 2020).

En nuestro estudio previo, identificamos el efecto hipotensor de un aceite de cannabis con variedad de cannabinoides, terpenos y flavonoides, sobre un biomodelo murino de ratas espontáneamente hipertensas (SHR). Observamos una reducción de la tensión arterial significativa, para dosis de cannabinoides en conjunto “efecto sequito” de 18mg/kg y de 36mg/kg. Pudimos atribuir dicho efecto hipotensor a la acción directa de estos cannabinoides sobre receptores (cannabinoides) CB1 y CB2, que mostraron una mayor expresión en tejidos de corazón y riñón, donde directamente juegan un papel para la reducción de la tensión arterial, con una reducción en la contracción y gasto cardiaco en corazón y una menor producción de angiotensina II (vasoconstrictor) en riñón. Sin embargo, a pesar de que existen antecedentes de posibles efectos sobre los mismos receptores, pero a nivel arterial, es decir en endotelio vascular y musculo liso vascular, no nos fue posible obtener estos datos. El efecto de cannabis en el endotelio vascular, resulta de gran importancia para analizar, dado el papel que desempeña dicho endotelio en la patogenia de la hipertensión arterial (Puhl SL, 106 et al., 2020; Howlett A., et al, 2017).

## EFFECTO DE CANNABIS SOBRE ENDOTELIO VASCULAR

### - **Receptores cannabinoides en endotelio**

El efecto principal que esperaríamos de un adecuado tratamiento antihipertensivo, es que atenuara el daño al endotelio, secundario a esta enfermedad. En el sistema cardiovascular, CB1 se expresa en regiones específicas dentro de los miocitos cardíacos, células endoteliales arteriales y capilares, donde parece estar involucrado en la fisiología cardiovascular. En el sistema cardiovascular, el CB2 está presente en varios tipos de células, como los cardiomiocitos, los fibroblastos, las células del músculo liso vascular y las células endoteliales de las arterias más grandes (Sauceda M, et al., 2022; Puhl SL, 106 et al., 2020; Howlett A., et al, 2017).

Existe gran evidencia del potencial efecto terapéutico que tienen endocannabinoides y cannabinoides en enfermedades cardiovasculares al actuar sobre sus receptores cannabinoides afines. Se ha demostrado que ejercen una acción directa a nivel de células endoteliales y de musculo liso, para producir vasodilatación que es clave para la regulación del flujo sanguíneo en la hipertensión arterial (Ho WSV & Kelly MEM 2017).

En el receptor CB1 a nivel endotelial, cannabinoides inducen relajación y posterior activación del óxido nítrico sintasa, recordando que el óxido nítrico es un potente vasodilatador. El receptor CB2 también se expresan en células vasculares, pero aún hay suficiente evidencia de su efecto hipotensor. El receptor TRPV4 endotelial, activas canales de potasio activados por calcio y posteriormente relaja el músculo liso (Ho WSV & Kelly MEM 2017; Ho, Zheng y Zhang, 2015).

En algunas arterias aisladas, se ha demostrado una inducción de la relajación a través de PPAR $\gamma$  endotelial o PPAR $\alpha$  de músculo liso (O'Sullivan, Kendall y Randall, 2009).

Los cannabinoides modulan el tono vascular principalmente a través de sus receptores y vías de señalización corriente abajo, que pueden ocurrir de manera *in vitro* e *in vivo* (Ho WSV & Kelly MEM 2017; Ho, Zheng y Zhang, 2015).

### **Actividad antioxidante a nivel endotelial.**

En diferentes enfermedades cardiovasculares, entre ellas en la hipertensión arterial, como parte de sus mecanismos fisiopatológicos, están asociadas al incremento de los niveles de especies reactivas de oxígeno, esto causa entonces estrés oxidativo, provocando un daño a nivel endotelial, lo que conduce también a la activación y unión de monocitos, la proliferación y migración de las células del músculo liso vascular (Rucker J, et al., 2017; Dalal, J. et al., 2012). Además, a través de la generación de citoquinas inflamatorias y especies reactivas de oxígeno, los macrófagos pueden afectar directamente la función endotelial y del músculo liso de la vascularización, lo que lleva a una mayor vasoconstricción, aunado a esto se produce un descenso en la biodisponibilidad óxido nítrico por el propio estrés oxidativo (Rucker J, et al., 2017; Rajendran, P., et al., 2013; Yung LM, et al., 2006).

Mantener un control en el estrés oxidativo, en patologías como es la hipertensión arterial, resulta importante para un mejor pronóstico de la enfermedad. Se ha encontrado que el CBD exhibe propiedades vasodilatadoras y antioxidantes en la hipertensión, esta acción hipotensora del CBD se identificó principalmente en condiciones de estrés (Kieman A et al., 2021). Los cannabinoides también modularon el estrés oxidativo y la inflamación en la hipertensión, condiciones que provocan un mal pronóstico en la fisiopatología de esta enfermedad (Kicman et al., 2020).

### **ESFEROIDES CELULARES COMO MODELO DE ESTUDIO A NIVEL ENDOTELIAL**

Los esferoides celulares han sido utilizados en estudios para el análisis del sistema cardiovascular *in vitro* se ha utilizado por ejemplo en el estudio de angiogénesis, migración celular en cáncer, mecanismos de vascularización y para el estudio de la disfunción endotelial (Scalise M, et al 2021; Potukuchi, A., et al 2017). Ensayos *in vitro* que emplearon monocapas de células endoteliales pudieron evaluar la función de barrera endotelial, la extravasación y permeabilidad del endotelio (Chan E, et al., 2016; Burckel H, et al., 2015).

Para estudios de detección de fármacos en condiciones de enfermedad cardiovascular como es la hipertensión arterial es importante tener en cuenta que la construcción de un modelo celular *in vitro* debe reproducir las condiciones fisiopatológicas del endotelio (Cui et al., 2019).

En algunos ensayos se han utilizado matrices extracelulares para la construcción de esferoides de endotelio vascular, estas contienen sustratos como poliuretanos, fibroblastos, colágeno tipo I, cadherina e integrina, estos compuestos se relacionan con la formación de esferoides de células endoteliales (Scalise M, et al 2021; Potukuchi, A., et al 2017). La formación de esferoides en condiciones adherentes es una de las técnicas de cultivo 3D más simples de lograr, que permiten interacciones 3D con las células y la matriz extracelular en ausencia de sustratos adicionales (Scalise M, et al., 2021). Se ha demostrado que esferoides celulares con un diámetro <100  $\mu\text{m}$  mantiene su viabilidad más tiempo que los esferoides más grandes, en esferoides con un diámetro de 500  $\mu\text{m}$ , se observó la muerte celular interna, esta situación podría estar asociada con la limitación de difusión de oxígeno, nutrientes y desechos metabólicos (Kim SJ, et al., 2020).

El número de células recomendadas para la formación de esferoides estables es diverso a lo largo de la literatura; sin embargo, de acuerdo con los resultados obtenidos, la densidad celular podría optimizarse de 1000 células/ml a millones de células/ml dependiendo de la aplicación del esferoide (Nath S.C., et al., 2017).

En esferoides celulares, una estructura vascularizada puede ser formada a partir de una interacción célula-célula con células endoteliales. Sin embargo, la alta densidad de células endoteliales necesarias para construir una red de vasos suficiente aún no se ha logrado *in vitro* con un valor de permeabilidad similar al del endotelio *in vivo* y que contenga los componentes celulares y extracelulares de los vasos tridimensionales (Ryu N. et al., 2019).

### **III. JUSTIFICACIÓN**

Las enfermedades cardiovasculares son reportadas como la primera causa de muerte a nivel mundial, traen consigo complicaciones y deterioro de la calidad de vida, entre estas enfermedades, uno de los problemas más graves es la hipertensión arterial (Coronado et al., 2019, OMS., 2018), la cual se caracteriza por mantener daño a nivel endotelial, lo que posteriormente trae consigo un mal pronóstico de la enfermedad y el desarrollo de otras complicaciones cardiovasculares (Kaushal N et al., 2020; Girgih A et al., 2014). La planta de cannabis contiene compuestos bioactivos con propiedades psicoactivas y medicinales que, según la evidencia científica, le confieren grandes beneficios en la salud. En particular se ha demostrado que mejorara la salud cardiovascular y podría utilizarse como tratamiento en problemas cardiovasculares para mejorar el pronóstico de la enfermedad, actuando por diferentes mecanismos a nivel endotelial en la hipertensión arterial (Polia et al., 2018, Girgih A et al., 2014).

Esta planta está siendo ampliamente comercializada en el mercado, en diferentes productos farmacéuticos, un aproximado del 40% de la población que consume derivados de cannabis, están motivados a consumirlos como parte de un estilo de vida saludable (Versic B., et al 2019). Sería importante tener una adecuada regulación con los productos que son lanzados al mercado y adquiridos con facilidad por la población en general. La comercialización de productos derivados de Cannabis, trajo consigo problemas derivados del etiquetado de dichos productos, es frecuente que estos sean incorrectos, pues algunos de estos han demostrado contener cantidades más altas de THC de lo legalmente permitido y más bajas de CBD con respecto a lo etiquetado. Las diferentes concentraciones y proporciones de cannabinoides en productos para consumo humano, específicamente aceites, podrían impactar en el efecto farmacológico final utilizado para algunas condiciones patológicas específicas. El análisis, control, regulación y utilización de productos de cannabis impactan en la autoadministración generalizada sin supervisión médica y amplia disponibilidad como suplemento o medicamento.

#### **IV. HIPÓTESIS**

Existe variabilidad en la concentración de cannabinoides en diferentes muestras de aceites para consumo humano, por ende, esta variabilidad influye en el efecto *in vitro* de su actividad farmacológica en células endoteliales sanas y enfermas.

#### **V. OBJETIVOS**

- **GENERAL**

Comparar la variabilidad en las concentraciones de cannabinoides en muestras de aceite para consumo humano, así como evaluar el efecto *in vitro* de su actividad farmacológica en células endoteliales.

- **ESPECÍFICOS.**

- ✓ Comparar las diferentes concentraciones de cannabinoides en muestras comerciales de aceites de cannabis para consumo humano, por HPLC / DAD previamente validado.
- ✓ Diseñar un modelo de esferoides en cultivo celular de HCAEC y de células endoteliales de SHR, así como caracterizar su morfología y densidad celular.
- ✓ Determinar apoptosis celular de esferoides celulares de endotelio vascular de humano sano y de SHR.
- ✓ Identificar el efecto de citotoxicidad de los diferentes aceites de cannabis sobre esferoides celulares de endotelio vascular de humano sano y de SHR.
- ✓ Identificar el efecto antioxidante de los diferentes aceites de cannabis sobre esferoides celulares de endotelio vascular de humano sano y de SHR.
- ✓ Identificar el nivel de expresión de receptores cannabinoides por los diferentes aceites de cannabis sobre esferoides celulares de endotelio vascular de humano sano y de SHR.

## VI. MATERIAL Y MÉTODOS

### TIPO Y ENFOQUE DE LA INVESTIGACIÓN.

Este estudio es de tipo experimental, con enfoque cuantitativo

### DEFINICIÓN DE LA MUESTRA.

Se utilizaron 17 productos de *cannabis* para uso y consumo humano, entre ellos 13 aceites y 4 cremas, todos los productos disponibles comercialmente para su adquisición en tienda física o en línea. El muestreo fue no probabilístico por conveniencia.

Se utilizó una línea de células endoteliales primarias de la arteria coronaria de humano sano (HCAEC), las cuales serán adquiridas comercialmente de Sigma Aldrich C-12221 y de células de endotelio arterial coronario de ratas espontáneamente hipertensas (SHR) macho de 8 semanas de edad, adquiridas de la Unidad de Fisiología Celular de la Universidad Nacional Autónoma de México, buscando el cumplimiento de la norma NOM-062-ZOO-1999.

### LIMITES DE ESPACIO Y TIEMPO

Todo procesamiento y análisis mencionado en dicho protocolo se realizó en la Coordinación para la Innovación y aplicación de la Ciencia y la Tecnología (CIACYT) en la Universidad Autónoma de San Luis Potosí. En el periodo de agosto 2022 a julio 2026.

El protocolo fue sometido al Comité de ética de la Coordinación para la innovación y Aplicación de la Ciencia y Tecnología, con código: **CIACYT-CEI-008**, el 13 de mayo del 2024.

En virtud de que las células HCAEC empleadas en este estudio corresponden a una línea comercial establecida (Sigma-Aldrich, catálogo C-12221) y no se realizó ninguna intervención directa sobre sujetos humanos, no se requirió la obtención de consentimiento informado en el marco de este protocolo.

Cabe aclarar que la carta de dictamen no contempló de manera expresa el análisis de productos con cannabinoides controlados y el uso de material celular de origen animal externo),

#### DEFINICIÓN DE VARIABLES.

Tabla 2. Definición de las variables a analizar en el estudio.

| <b>Variable</b>                                       | <b>Operacionalización</b>             | <b>Tipo de Variable</b>       | <b>Medición</b>                                                                                                          |
|-------------------------------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Presencia de cannabinoides en aceites comerciales     | Expresado como área bajo la curva     | Dependiente<br>Cuantitativa   | Se determinó por análisis en HPLC/DAD                                                                                    |
| Concentración de cannabinoides en aceites comerciales | Expresado como mg/ml.                 | Dependiente<br>Cuantitativa   | Se determinó por el análisis en HPLC/DAD                                                                                 |
| Densidad celular en esferoides                        | Expresado como células/pozo.          | Independiente<br>Cuantitativa | Se determinó por observación en Microscopio Invertido Leica Thermo Fisher y la cuantificación por una cámara de Neubauer |
| Morfología y tamaño de esferoides celulares           | Expresado como mm de diámetro celular | Dependiente<br>Cuantitativa   | Se determinó por observación en Microscopio Invertido Leica Thermo Fisher<br><br>Así como con ayuda del Software Image J |

|                                       |                                                                                |                          |                                                                                                       |
|---------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Viabilidad Celular                    | Expresado como viabilidad celular                                              | Dependiente Cuantitativa | Se determinó por medio del Dapi                                                                       |
| Citotoxicidad                         | Expresado como citotoxicidad                                                   | Dependiente Cuantitativa | Se determinó por medio de la metodología con MTT                                                      |
| Expresión de receptores cannabinoides | Expresado como Delta Rn                                                        | Dependiente Cuantitativa | Se determinó por medio de extracción de RNA, transcripción y RT – qPCR.                               |
| Actividad antioxidante                | Expresado como actividad de DPPH y ABTS, Catalasa, así como viabilidad celular | Dependiente Cuantitativa | Se determinó por medio de las metodologías de DPPH y ABTs, Catalasa, así como por viabilidad celular. |

## CUANTIFICACIÓN DEL PERFIL CANNABINOIDE EN PRODUCTOS DE CONSUMO HUMANO.

### - **Materiales y reactivos.**

Para la identificación y cuantificación de cannabinoides presentes en los 17 productos de aceite de cannabis para consumo y uso humano, se utilizó la cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) 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 utilizó un estándar de referencia certificado para análisis de cannabinoides de Supelco, con su respectivo número de catálogo: Cannabinoid Mixture (Neutrals) –

8 Component N° C219-1ML (1mg/mL), dicho estándar, contiene los siguientes cannabinoides, D9-THC, D8-THC, CBD, CBG, CBN, CBC, CBDV, THCV.

Se adjunta en anexos certificado de análisis del estándar y parámetros de aptitud del sistema.

Los disolventes y fases móviles fueron de grado HPLC agua, metanol y acetonitrilo.

- **Preparación de fases móviles y diluyente.**

- Diluyente, metanol: agua 80/20.

Se ajustó el diluyente de la siguiente manera, para 1L se midió 800 mL de metanol y se agregó 200 mL de agua grado HPLC, posteriormente se filtró utilizando filtro de membrana con tamaño de poro de 0.45µm.

- Acetonitrilo.

Se filtró utilizando filtro de membrana con tamaño de poro de 0.45µm.

- Formiato de amonio a pH 3 con una concentración 10mM.

Se ajustó el formiato de amonio a 10mM de la siguiente manera

$$M = n / v$$

$$n = \text{Molaridad} * \text{volumen}$$

$$n = (.01) * (.5L) = .005 \text{ mol.}$$

$$n = \text{masa} / \text{peso molecular}$$

$$\text{masa} = n * \text{peso molecular}$$

$$\text{masa} = .005 \text{ mol} (63.0054 \text{ g / mol} = .3152\text{g en 500mL}$$

1. Se pesó .3152g de formiato de amonio en balanza analítica
2. Se agregó 400 ml de agua HPLC
3. Una vez bien disuelto el formiato de amonio en agua, se ajustó pH a 3 con ácido fórmico.
4. Cuando el pH llega a 3, con un matraz se midió los 500 ml

5. Se filtró el compuesto utilizando filtro de membrana con tamaño de poro de  $0.45\mu\text{m}$  y se guardó en un reservorio hasta su uso.

#### - Preparación de la muestra

Para la preparación de las muestras de aceite y cremas de cannabis se siguió lo establecido por Analakkattillam, S et al., 2022 y Meng Q, et al., 2018, con algunas modificaciones.

Para las muestras de crema, se pesan aproximadamente 50mg de producto, para agregar después 1ml de éter etílico, se agitó vigorosamente por 2 minutos y sónico durante 15 minutos con agitación intermitente, esta mezcla es llevada a una dilución 1:10, con un volumen final de 5ml, se agitó vigorosamente por 2 minutos y sónico durante 15 minutos. Finalmente se centrifugó a 6000 rpm durante 15 minutos y se toma el sobrenadante.

En la figura 4 se muestra a detalle el procedimiento de preparación de muestras.

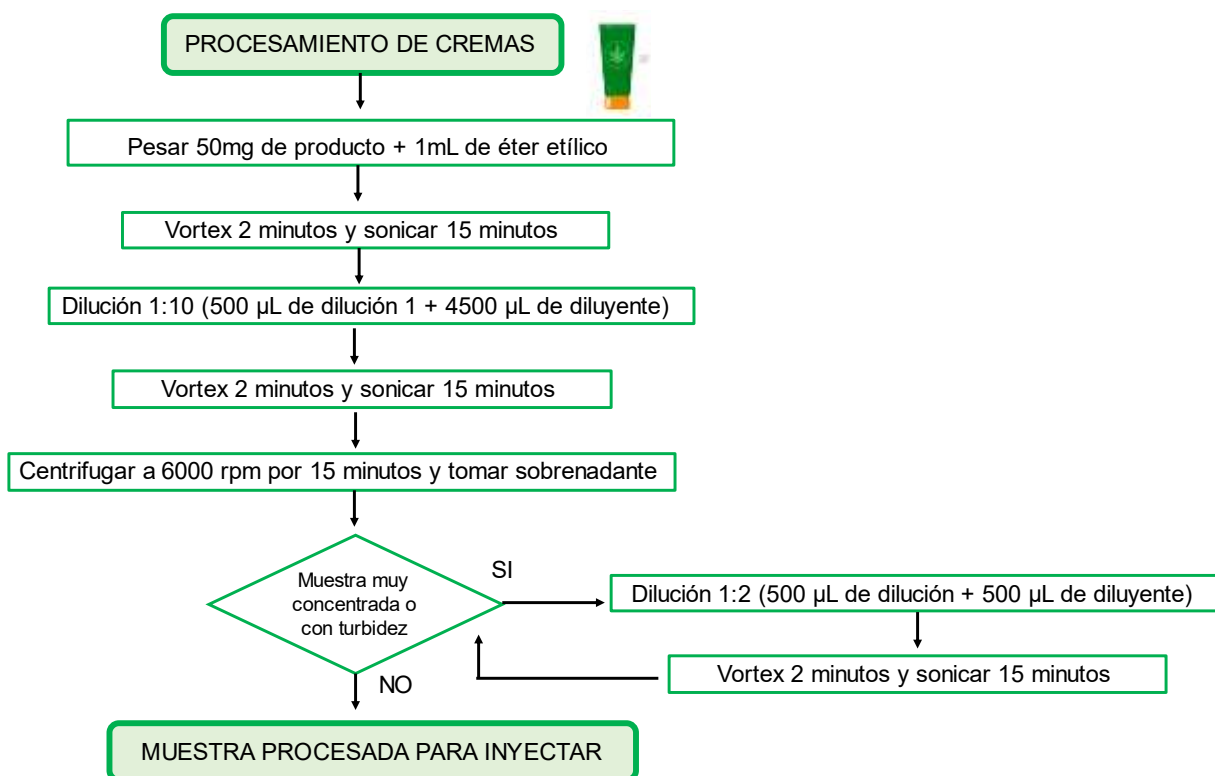


Figura 4. Diagrama del procesamiento de cremas para su análisis por HPLC/DAD

Para las muestras de aceites, se hizo una dilución 1:100 del aceite de cannabis con el diluyente (metano:agua, 80:20), en un volumen final de 1ml, esta solución se agitó vigorosamente 2 minutos y sónico durante 15 min con agitación intermitente. Posteriormente se hace una dilución 1:5 con el diluyente, en un volumen final de 1ml, esta solución se agitó vigorosamente 2 minutos y sónico durante 15 min con agitación intermitente. Siguiendo con una dilución 1:2 con un volumen final de 1mL. Es posible continuar con la dilución 1:2 hasta que sea necesario. Finalmente se centrifuga a 6000 rpm durante 15 minutos y se toma el sobrenadante. En la figura 5 se muestra a detalle el procedimiento de preparación de muestras.

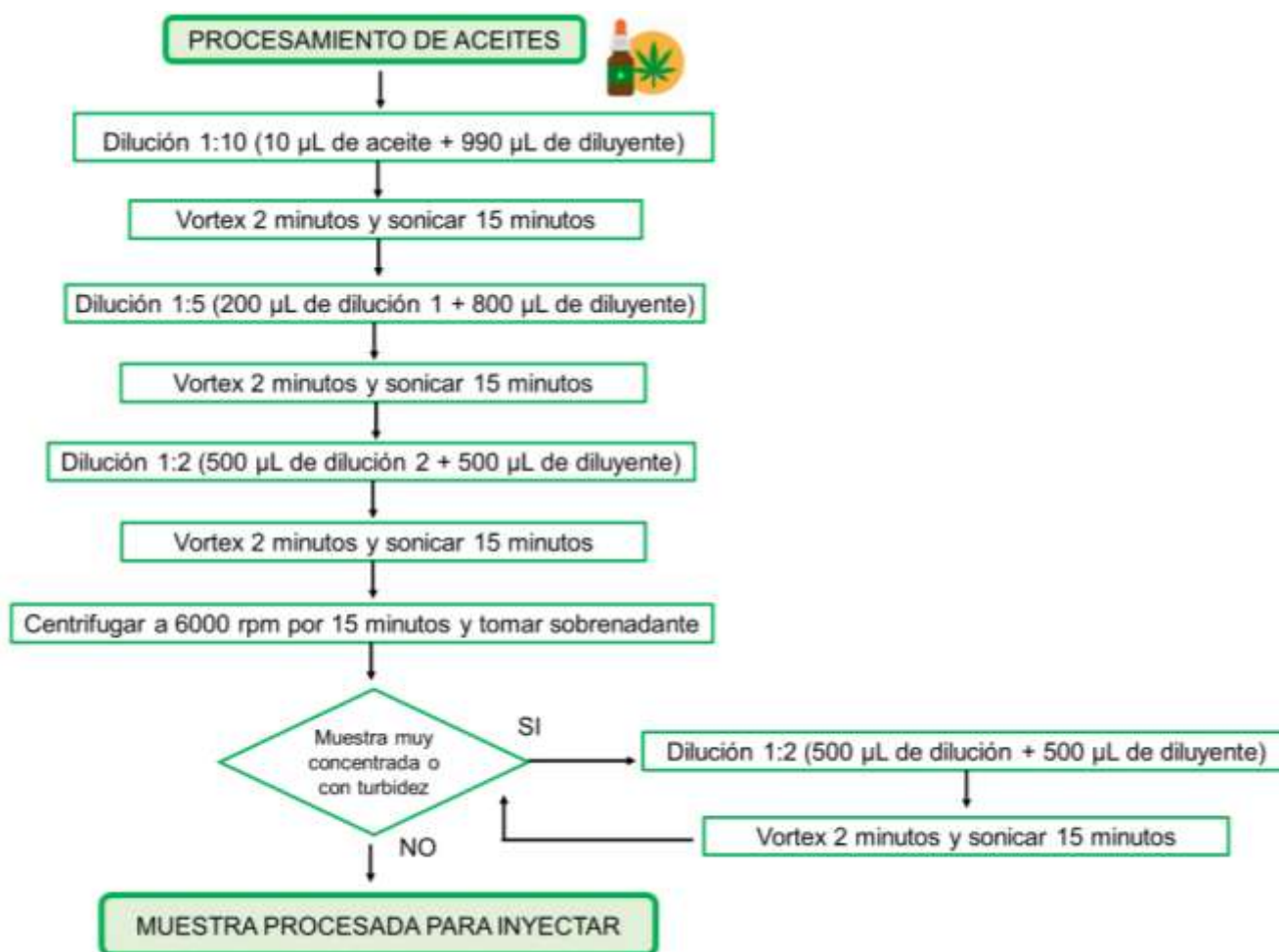


Figura 5. Diagrama del procesamiento de aceites para su análisis por HPLC/DAD

- **Condiciones de los productos**

Los productos no cuentan con fechas de caducidad, tampoco con especificaciones para su almacenamiento, sin embargo, estos se encuentran empaquetados en recipientes ámbar. Por lo que estos se mantuvieron protegidos de la luz, a temperatura ambiente y en un periodo de 3 meses.

Los productos fueron analizados por triplicado y etiquetados de la siguiente manera:

**ACEITES**

Producto #1. Concentración desconocida

Producto #2. Concentración desconocida

Producto #3. Concentración desconocida (Descarboxilado)

Producto #4. Concentración desconocida (Infusión Flor)

Producto #5. CBD 100 mg/mL (Cannani). “Grado científico, no disponible para venta libre”.

Producto #6. THCA 50 mg/mL (Cannani). “Grado científico, no disponible para venta libre”.

Producto #7. CBD 4.16 mg/mL (Tintura)

Producto #8. CBD 16.6 mg/mL (Paradise)

Producto #11. CBD 66mg/mL (Paradise)

Producto #14. Espectro completo, aceite de cáñamo 300mg/mL (Saniye)

Producto #15. Tintura de CBD. Concentración desconocida

Producto #16. Concentración desconocida – Origen: Orizaba

Producto #17. Concentración desconocida – Origen: Orizaba

**CREMAS**

Producto #9. CBD .5mg/g (Bálsamo Pure Hemp)

Producto #10. CBD 1.6/g (Pomada Paradise)

Producto #12. Concentración desconocida

Producto #13. Concentración desconocida (Concentrada)

- **Condiciones cromatográficas**

El análisis de la concentración de compuestos cannabinoides presentes en los aceites de Cannabis, se realizó por triplicado en el HPLC-DAD. Se inyectó un volumen de 20µL por muestra y correremos a un caudal de 1 mL/min, bajo un gradiente isocrático. La fase móvil está compuesta por: (A): Acetonitrilo en una proporción de 88% y (B) Formiato de amonio 10 mM (pH=3) en una proporción de 12%

Los cannabinoides fueron detectados por medio de un detector DAD, con sus valores de absorbancia de 214, 220, 228, 230, 240, 280 y 305 nm, hasta encontrar la mejor respuesta. El desarrollo final del método, se muestra en la tabla 3.

Tabla 3. Condiciones del análisis en HPLC/DAD

|                      |                                                                     |
|----------------------|---------------------------------------------------------------------|
| Longitud de onda     | 220nm                                                               |
| Columna              | Zorbax C18 150 x 4.6mm. Partícula 5µm                               |
| T° Columna           | 35°C                                                                |
| Tiempo de corrida    | 6.5 minutos                                                         |
| Volumen de inyección | 20µl                                                                |
| Fase móvil           | A - Acetonitrilo (88%)<br>B – Formiato de amonio 10mM pH 3<br>(12%) |
| Flujo                | 1mL/min                                                             |

Con las respectivas condiciones, se identificaron los siguientes analitos en el estándar, con sus respectivos tiempos de retención, mostrados en la tabla 4.

Tabla 4. Analitos identificados por HPLC/DAD con sus tiempos de retención.

| MINUTO | CANNABINOIDES |
|--------|---------------|
| 2.49   | CBDV          |
| 2.92   | CBG           |
| 3.12   | CBD           |
| 3.58   | THCV          |
| 4.22   | CBN           |
| 5.16   | THC           |
| 5.85   | CBC           |

- **Validación de métodos.**

Previamente al análisis de HPLC / DAD fue importante implementar una validación del método a utilizar, para ello se siguió lo establecido en la guía de calidad del Consejo Internacional para la Armonización (ICH) y la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA), por sus siglas en inglés. Es importante mencionar que los criterios de aceptación descritos a continuación corresponden a lo estipulado en la guía ICH Q2,R2, Validation of Analytical Procedures, adoptada el 1 de noviembre de 2023 (ICH, 2023), por su aplicación a la valoración de contenido de contenido un producto, sin embargo, para un control más específico se complementó con la guía ICH M10, Bioanalytical Method Validation and Study Sample Analysis, adoptada el 24 de mayo de 2022 (ICH, 2022), y la guía de la FDA, Bioanalytical Method Validation: Guidance for Industry, de 2018 (FDA, 2018), ambas diseñadas originalmente para la cuantificación de fármacos en matrices biológicas, dado que estudios similares al nuestro han utilizado dichas guías como una adaptación metodológica para la evaluación del desempeño del procedimiento en productos formulados. Los criterios específicos de aceptación empleados para cada parámetro se describen a continuación.

#### LINEALIDAD

Para este parámetro se realizó una curva de calibración con el estándar de 8 cannabinoides, con un gráfico de señales en función de la concentración y respuesta del analito. Es necesario un mínimo 5 concentraciones por distribuidas en un rango sin contar el cero. Se generó una curva de calibración para cada analito en la muestra.

Los calibradores distintos de cero deben tener  $\pm 15 \%$  de las concentraciones teóricas, excepto en el Límite de Cuantificación, donde el calibrador debe tener  $\pm 20 \%$  de las concentraciones teóricas. El 75 % de los análisis deben cumplir los criterios anteriores en cada validación. La linealidad se obtiene con un coeficiente de correlación ( $r^2$ )  $> 0.99$ .

- LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN (LC)

Debe validarse mediante el análisis de un número adecuado de muestras que se sepa que están cerca del límite de cuantificación. El estándar distinto de cero más bajo en la curva de calibración define el límite de cuantificación. En este caso, el límite de cuantificación debe presentar una recuperación de 20%.

- LÍMITE DE DETECCIÓN (LD)

Debe validarse mediante el análisis de muestras con concentraciones conocidas de analito y estableciendo el nivel mínimo en el que el analito puede detectarse de manera fiable.

- REPETIBILIDAD Y REPRODUCIBILIDAD EN TÉRMINOS PRECISIÓN Y EXACTITUD.

El procedimiento se aplica a un analito de pureza conocida, se evaluó el resultado medido frente al teórico esperado, mediante el porcentaje recuperación. Con cuatro niveles de control de calidad por análisis (Límite de cuantificación, concentración baja, media y alta) y cinco o más réplicas por nivel de control de calidad (repetibilidad). La concentración recuperada debe ser de  $\pm 15\%$  de la concentración nominal (teórica); en cinco o más repeticiones en al menos tres corridas, excepto  $\pm 20\%$  en el límite de cuantificación, esto para medir exactitud. La precisión debe ser de  $\pm 15\%$  CV, excepto  $\pm 20\%$  CV en LC. Se estableció los efectos de diferentes eventos (variación de días, analistas o equipos) sobre la precisión y exactitud para el análisis de reproducibilidad. En esta validación por triplicado en 3 días diferentes. Repetibilidad y reproducibilidad se miden en términos de exactitud y precisión.

- ESTABILIDAD DE LA MUESTRA

Estabilidad del inyector automático.

Demostrar la estabilidad de los extractos después de almacenarse por 24 horas en el inyector automático a una temperatura de 19°C, la muestra es estable en estas condiciones con porcentajes de recuperación del 100 +/- 15%.

#### Estabilidad congelación y descongelación.

Evaluar la estabilidad de la muestra después de un mínimo de tres ciclos de congelación y descongelación (congelarse durante al menos 12 horas entre ciclos a -20°C). Los controles de calidad de congelación y descongelación deben compararse con las curvas de calibración y los controles de calidad recién preparados. Se deben mantener porcentajes de recuperación del 100 +/- 15%.

#### Estabilidad de 24 horas.

Para evaluar la estabilidad a largo plazo, se refrigeraron los analitos a 4°C durante 24 horas, se realizaron al menos tres réplicas en concentraciones de control bajo y alto. La precisión (% nominal) debe ser de  $\pm 15\%$ .

#### Estabilidad a corto plazo.

Para evaluar la estabilidad a corto plazo, se refrigeran los analitos a 4°C durante 4 horas, se realizaron al menos tres réplicas en concentraciones de control bajo y alto, los analitos deben mantener un porcentaje de precisión del  $\pm 15\%$ , con respecto a la concentración nominal.

#### - EFECTO MATRÍZ

Este parámetro se realizó con el fin de determinar si la matriz en la que se encuentran los analitos de interés (cannabinoides), tiene algún efecto sobre la detección final de los mismo. La matriz de los productos es crema y aceite.

Se hace una comparativa del promedio de tres repeticiones del estándar disuelto con el diluyente de la muestra con respecto a la matriz de la muestra, en este caso particular el analito en metanol vs el analito en aceite/crema.

La diferencia en los promedios no debe ser mayor al 20% para cada cannabinoide del estándar.

Los diferentes aceites analizados por HPLC fueron probados sobre esferoides celulares de células de endotelio arterial sano y enfermo con hipertensión arterial para determinar su efecto farmacológico *in vitro* de cada uno de ellos.

## VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### VALIDACIÓN DEL MÉTODO

La validación del método analítico HPLC/DAD se realizó con base a lo reportado por la FDA y la ICH, los resultados se muestran a continuación.

#### - Linealidad

La linealidad se obtuvo del promedio de 6 concentraciones por triplicado en un rango de 2 a 25 µg/mL (2, 5, 10, 15, 20 y 25µg/mL). Se obtiene un  $r^2 \geq 0.99$ , un % de recuperación menor al 15% (para las concentraciones de 10 - 25 µg / mL) y menor al 20% (para concentraciones de 2 - 5 µg / mL), finalmente un % CV menor al 15%, en el 75% de los resultados, esto para los 7 cannabinoides analizado, dichos resultados se muestran en la tabla 5.

El estándar de referencia certificado utilizado (Supelco, Cannabinoid Mixture (Neutrals) – 8 Component, N.º C219-1ML) contiene ocho cannabinoides (D9-THC, D8-THC, CBD, CBG, CBN, CBC, CBDV y THCV), mientras que la validación y los resultados reportados abarcan únicamente siete. La explicación técnica a esta variación está relacionada con la conocida dificultad para resolver isómeros estructurales por HPLC-UV, el D8-THC se coeluido con el D9-THC bajo estas condiciones cromatográficas y no se pudo individualizar como pico independiente (Leghissa A, et al., 2018).

Tabla 5. Resultados de linealidad de los 7 cannabinoides

| CBDV                       |                                                |               |       |                |                      |
|----------------------------|------------------------------------------------|---------------|-------|----------------|----------------------|
| Concentración Real (µg/ml) | Promedio de la concentración calculada (µg/ml) | %Recuperación | %CV   | R <sup>2</sup> | Ecuación de la recta |
| 2                          | 2.18                                           | -9.00         | 12.88 | <b>0.996</b>   | Y = 302.81x + 12.483 |
| 5                          | 4.78                                           | 4.45          | 13.09 |                |                      |
| 10                         | 10.96                                          | -9.62         | 3.44  |                |                      |
| 15                         | 15.89                                          | -5.97         | 2.38  |                |                      |
| 20                         | 18.91                                          | 5.47          | 5.49  |                |                      |
| 25                         | 24.67                                          | 1.30          | 1.58  |                |                      |

| CBD                        |                                                |               |       |                |                      |
|----------------------------|------------------------------------------------|---------------|-------|----------------|----------------------|
| Concentración Real (µg/ml) | Promedio de la concentración calculada (µg/ml) | %Recuperación | %CV   | R <sup>2</sup> | Ecuación de la recta |
| 2                          | 2.19                                           | -9.26         | 13.24 | <b>0.998</b>   | Y = 248.26x + 31.59  |
| 5                          | 4.60                                           | 8.08          | 14.71 |                |                      |
| 10                         | 11.01                                          | -10.13        | 3.41  |                |                      |
| 15                         | 15.62                                          | -4.11         | 1.30  |                |                      |
| 20                         | 19.45                                          | 2.74          | 2.53  |                |                      |
| 25                         | 24.74                                          | 1.04          | 1.18  |                |                      |

| CBN                        |                                                |               |       |                |                      |
|----------------------------|------------------------------------------------|---------------|-------|----------------|----------------------|
| Concentración Real (µg/ml) | Promedio de la concentración calculada (µg/ml) | %Recuperación | %CV   | R <sup>2</sup> | Ecuación de la recta |
| 2                          | 2.37                                           | -18.37        | 11.19 | <b>0.998</b>   | Y = 517.15x + 47.209 |
| 5                          | 4.96                                           | 0.84          | 12.96 |                |                      |
| 10                         | 10.97                                          | -9.68         | 2.86  |                |                      |
| 15                         | 15.95                                          | -6.32         | 2.91  |                |                      |
| 20                         | 19.21                                          | 3.94          | 3.44  |                |                      |
| 25                         | 24.90                                          | 0.41          | 2.44  |                |                      |

| THCV                       |                                                |               |       |                |                      |
|----------------------------|------------------------------------------------|---------------|-------|----------------|----------------------|
| Concentración Real (µg/ml) | Promedio de la concentración calculada (µg/ml) | %Recuperación | %CV   | R <sup>2</sup> | Ecuación de la recta |
| 2                          | 1.93                                           | 3.41          | 4.25  | <b>0.997</b>   | Y = 305.56 + 157.61  |
| 5                          | 4.86                                           | 2.84          | 15.39 |                |                      |
| 10                         | 10.64                                          | -6.40         | 4.31  |                |                      |
| 15                         | 15.72                                          | -4.79         | 1.97  |                |                      |
| 20                         | 19.04                                          | 4.79          | 3.37  |                |                      |
| 25                         | 24.85                                          | 0.62          | 1.22  |                |                      |

| THC                        |                                                |               |       |                |                      |
|----------------------------|------------------------------------------------|---------------|-------|----------------|----------------------|
| Concentración Real (µg/ml) | Promedio de la concentración calculada (µg/ml) | %Recuperación | %CV   | R <sup>2</sup> | Ecuación de la recta |
| 2                          | 2.00                                           | 0.24          | 9.51  | <b>0.998</b>   | Y = 550.03x + 3.6484 |
| 5                          | 4.84                                           | 3.19          | 15.66 |                |                      |
| 10                         | 10.66                                          | -6.60         | 3.87  |                |                      |
| 15                         | 15.61                                          | -4.04         | 2.97  |                |                      |
| 20                         | 18.96                                          | 5.20          | 3.69  |                |                      |
| 25                         | 24.81                                          | 0.75          | 1.58  |                |                      |

| CBC                        |                                 |               |       |                |                      |
|----------------------------|---------------------------------|---------------|-------|----------------|----------------------|
| Concentración Real (µg/ml) | Concentración Calculada (µg/ml) | %Recuperación | %CV   | R <sup>2</sup> | Ecuación de la recta |
| 2                          | 2.16                            | -8.08         | 14.90 | <b>0.994</b>   | Y = 332.19x - 137.91 |
| 5                          | 5.01                            | -0.12         | 7.75  |                |                      |
| 10                         | 10.26                           | -2.59         | 0.82  |                |                      |
| 15                         | 15.10                           | -0.69         | 3.88  |                |                      |
| 20                         | 19.03                           | 4.83          | 0.94  |                |                      |
| 25                         | 25.04                           | -0.16         | 2.63  |                |                      |

| CBG                        |                                                |               |       |                |                      |
|----------------------------|------------------------------------------------|---------------|-------|----------------|----------------------|
| Concentración Real (µg/ml) | Promedio de la concentración calculada (µg/ml) | %Recuperación | %CV   | R <sup>2</sup> | Ecuación de la recta |
| 2                          | 2.10                                           | -5.00         | 2.73  | <b>0.998</b>   |                      |
| 5                          | 4.76                                           | 4.80          | 14.62 |                |                      |
| 10                         | 10.80                                          | -8.03         | 2.73  |                |                      |
| 15                         | 15.62                                          | -4.15         | 1.91  |                |                      |

|    |       |      |      |  |                         |
|----|-------|------|------|--|-------------------------|
| 20 | 19.50 | 2.49 | 2.02 |  | Y = 242.87x +<br>88.214 |
| 25 | 24.68 | 1.30 | 0.40 |  |                         |

- **Límite de cuantificación y detección.**

El límite de cuantificación fue de 2 µg / ml con valores de < 20% para porcentaje de recuperación con respecto a la concentración nominal.

Mientras que para el de identificación, varió el nivel mínimo en el que el analito pudo detectarse de manera fiable. En la tabla 6, se muestran los resultados.

Tabla 6. Límite de cuantificación y detección de 7 cannabinoides

| CANNABINOIDE | LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN | LÍMITE DE DETECCIÓN |
|--------------|--------------------------|---------------------|
| CBDV         | 2 µg/ml                  | 1 µg/ml             |
| CBG          | 2 µg/ml                  | .25 µg/ml           |
| CBD          | 2 µg/ml                  | .25 µg/ml           |
| THCV         | 2 µg/ml                  | .25 µg/ml           |
| CBN          | 2 µg/ml                  | .25 µg/ml           |
| THC          | 2 µg/ml                  | .25 µg/ml           |
| CBC          | 2 µg/ml                  | .25 µg/ml           |

- **Repetibilidad en términos de precisión y exactitud**

La exactitud se cumplió al mantener ± 15 % de la concentración nominal en ≥ 5 repeticiones y con un ± 20 % en el límite de cuantificación. La precisión se cumplió al mantener < 15 % el valor de CV. Los resultados se muestran en la tabla 7.

Tabla 7. Resultados de repetibilidad para los 7 cannabinoides

| CBDV                            |                    |                   |          |                        |       |
|---------------------------------|--------------------|-------------------|----------|------------------------|-------|
| LÍMITE<br>DE<br>CUANT           | Valor<br>Calculado | %<br>Recuperación | Promedio | Desviación<br>Estándar | % CV  |
|                                 | 2.18               | -9.00             | 2.070    | 0.197                  | 9.516 |
|                                 | 2.022              | -1.079            |          |                        |       |
|                                 | 2.147              | -7.329            |          |                        |       |
|                                 | 2.250              | -12.500           |          |                        |       |
|                                 | 1.750              | 12.503            |          |                        |       |
|                                 |                    |                   |          |                        |       |
| PUNTO<br>BAJO<br>(7 µg/ml)      | Valor<br>Calculado | %<br>Recuperación | Promedio | Desviación<br>Estándar | % CV  |
|                                 | 7.3747             | -5.3534           | 7.526    | 0.263                  | 3.496 |
|                                 | 7.1583             | -2.2619           |          |                        |       |
|                                 | 7.7873             | -11.2473          |          |                        |       |
|                                 | 7.5635             | -8.0506           |          |                        |       |
|                                 | 7.7479             | -10.6847          |          |                        |       |
|                                 |                    |                   |          |                        |       |
| PUNTO<br>MEDIO<br>(12<br>µg/ml) | Valor<br>Calculado | %<br>Recuperación | Promedio | Desviación<br>Estándar | % CV  |
|                                 | 10.9171            | 9.0240            | 10.585   | 0.422                  | 3.984 |
|                                 | 11.1560            | 7.0335            |          |                        |       |
|                                 | 10.2300            | 14.7501           |          |                        |       |
|                                 | 10.3102            | 14.0815           |          |                        |       |
|                                 | 10.3139            | 14.0508           |          |                        |       |
|                                 |                    |                   |          |                        |       |
| PUNTO<br>ALTO<br>(18<br>µg/ml)  | Valor<br>Calculado | %<br>Recuperación | Promedio | Desviación<br>Estándar | % CV  |
|                                 | 7.3747             | -5.3534           | 7.526    | 0.263                  | 3.496 |
|                                 | 7.1583             | -2.2619           |          |                        |       |
|                                 | 7.7873             | -11.2473          |          |                        |       |
|                                 | 7.5635             | -8.0506           |          |                        |       |
|                                 | 7.7479             | -10.6847          |          |                        |       |
|                                 |                    |                   |          |                        |       |

| CBG                             |                    |                   |          |                        |       |
|---------------------------------|--------------------|-------------------|----------|------------------------|-------|
| LÍMITE<br>DE<br>CUANT           | Valor<br>Calculado | %<br>Recuperación | Promedio | Desviación<br>Estándar | % CV  |
|                                 | 2.10               | -5.00             | 1.905    | 0.143                  | 7.51  |
|                                 | 1.709              | 14.558            |          |                        |       |
|                                 | 1.961              | 1.962             |          |                        |       |
|                                 | 1.857              | 7.154             |          |                        |       |
|                                 | 1.901              | 4.964             |          |                        |       |
| PUNTO<br>BAJO<br>(7 µg/ml)      | Valor<br>Calculado | %<br>Recuperación | Promedio | Desviación<br>Estándar | % CV  |
|                                 | 7.1144             | -1.6339           | 7.505    | 0.38                   | 5.18  |
|                                 | 7.1205             | -1.7214           |          |                        |       |
|                                 | 7.6874             | -9.8203           |          |                        |       |
|                                 | 7.5795             | -8.2786           |          |                        |       |
|                                 | 8.0211             | -14.5866          |          |                        |       |
| PUNTO<br>MEDIO<br>(12<br>µg/ml) | Valor<br>Calculado | %<br>Recuperación | Promedio | Desviación<br>Estándar | % CV  |
|                                 | 10.7270            | 10.6083           | 11.216   | 1.415                  | 12.62 |
|                                 | 10.9226            | 8.9786            |          |                        |       |
|                                 | 10.3316            | 13.9032           |          |                        |       |
|                                 | 10.3896            | 13.4201           |          |                        |       |
|                                 | 13.7096            | -14.2464          |          |                        |       |
| PUNTO<br>ALTO<br>(18<br>µg/ml)  | Valor<br>Calculado | %<br>Recuperación | Promedio | Desviación<br>Estándar | % CV  |
|                                 | 19.4961            | -8.3116           | 19.729   | 0.986                  | 4.99  |
|                                 | 19.4541            | -8.0786           |          |                        |       |
|                                 | 20.3967            | -13.3147          |          |                        |       |
|                                 | 20.1945            | -12.1916          |          |                        |       |
|                                 | 18.5960            | -3.3111           |          |                        |       |

| CBD                             |                    |                   |          |                        |       |
|---------------------------------|--------------------|-------------------|----------|------------------------|-------|
| LÍMITE<br>DE<br>CUANT           | Valor<br>Calculado | %<br>Recuperación | Promedio | Desviación<br>Estándar | % CV  |
|                                 | 2.185              | -9.259            | 1.946    | 0.227                  | 11.65 |
|                                 | 1.989              | 0.539             |          |                        |       |
|                                 | 2.113              | -5.634            |          |                        |       |
|                                 | 1.817              | 9.170             |          |                        |       |
|                                 | 1.726              | 16.84             |          |                        |       |
| PUNTO<br>BAJO<br>(7 µg/ml)      | Valor<br>Calculado | %<br>Recuperación | Promedio | Desviación<br>Estándar | % CV  |
|                                 | 7.5755             | -8.2220           | 7.98     | .23                    | 2.92  |
|                                 | 7.4884             | -6.9770           |          |                        |       |
|                                 | 8.0071             | -14.3877          |          |                        |       |
|                                 | 7.7995             | -11.4208          |          |                        |       |
|                                 | 8.9533             | 7.9074            |          |                        |       |
| PUNTO<br>MEDIO<br>(12<br>µg/ml) | Valor<br>Calculado | %<br>Recuperación | Promedio | Desviación<br>Estándar | % CV  |
|                                 | 10.5003            | 12.4975           | 11.17    | 1.339                  | 11.98 |
|                                 | 10.9027            | 9.1442            |          |                        |       |
|                                 | 10.4706            | 12.7447           |          |                        |       |
|                                 | 10.4705            | 12.7459           |          |                        |       |
|                                 | 13.5535            | -12.9456          |          |                        |       |
| PUNTO<br>ALTO<br>(18<br>µg/ml)  | Valor<br>Calculado | %<br>Recuperación | Promedio | Desviación<br>Estándar | %CV   |
|                                 | 20.1577            | -11.9873          | 19.747   | 1.067                  | 5.40  |
|                                 | 19.5685            | -8.7139           |          |                        |       |
|                                 | 20.5161            | -13.9781          |          |                        |       |
|                                 | 20.1976            | -12.2088          |          |                        |       |
|                                 | 18.5287            | -2.9371           |          |                        |       |

| THCV                            |                    |                   |          |                        |       |
|---------------------------------|--------------------|-------------------|----------|------------------------|-------|
| LÍMITE<br>DE<br>CUANT           | Valor<br>Calculado | %<br>Recuperación | Promedio | Desviación<br>Estándar | % CV  |
|                                 | 1.932              | 3.408             | 1.873    | 0.144                  | 7.68  |
|                                 | 1.838              | 7.120             |          |                        |       |
|                                 | 2.011              | -0.553            |          |                        |       |
|                                 | 1.937              | 3.126             |          |                        |       |
|                                 | 1.847              | 7.649             |          |                        |       |
| PUNTO<br>BAJO<br>(7 µg/ml)      | Valor<br>Calculado | %<br>Recuperación | Promedio | Desviación<br>Estándar | % CV  |
|                                 | 7.6403             | -9.1478           | 7.60     | .288                   | 3.79  |
|                                 | 7.1925             | -2.7500           |          |                        |       |
|                                 | 7.8689             | -12.4130          |          |                        |       |
|                                 | 7.7005             | -10.0065          |          |                        |       |
|                                 | 5.9571             | 14.8987           |          |                        |       |
| PUNTO<br>MEDIO<br>(12<br>µg/ml) | Valor<br>Calculado | %<br>Recuperación | Promedio | Desviación<br>Estándar | % CV  |
|                                 | 10.3637            | 13.6362           | 11.091   | 1.339                  | 11.98 |
|                                 | 10.7783            | 10.1811           |          |                        |       |
|                                 | 10.2351            | 14.7079           |          |                        |       |
|                                 | 10.5976            | 11.6870           |          |                        |       |
|                                 | 13.4813            | -12.3443          |          |                        |       |
| PUNTO<br>ALTO<br>(18<br>µg/ml)  | Valor<br>Calculado | %<br>Recuperación | Promedio | Desviación<br>Estándar | % CV  |
|                                 | 16.0285            | 10.9526           | 19.780   | 1.079                  | 5.45  |
|                                 | 15.5569            | 13.5726           |          |                        |       |
|                                 | 20.2714            | -12.6190          |          |                        |       |
|                                 | 20.5278            | -14.0434          |          |                        |       |
|                                 | 18.5431            | -3.0172           |          |                        |       |

| CBN                             |                    |                   |          |                        |         |
|---------------------------------|--------------------|-------------------|----------|------------------------|---------|
| LÍMITE<br>DE<br>CUANT           | Valor<br>Calculado | %<br>Recuperación | Promedio | Desviación<br>Estándar | %<br>CV |
|                                 | 1.767              | -13.374           | 1.807    | 0.085                  | 4.72    |
|                                 | 1.822              | 8.897             |          |                        |         |
|                                 | 1.949              | 2.540             |          |                        |         |
|                                 | 1.738              | 13.120            |          |                        |         |
|                                 | 1.758              | 13.087            |          |                        |         |
| PUNTO<br>BAJO<br>(7 µg/ml)      | Valor<br>Calculado | %<br>Recuperación | Promedio | Desviación<br>Estándar | %<br>CV |
|                                 | 7.3051             | -4.3592           | 7.78     | .285                   | 3.67    |
|                                 | 7.7794             | -11.1349          |          |                        |         |
|                                 | 7.9267             | -13.2386          |          |                        |         |
|                                 | 7.8717             | -12.4525          |          |                        |         |
|                                 | 8.0479             | -14.9700          |          |                        |         |
| PUNTO<br>MEDIO<br>(12<br>µg/ml) | Valor<br>Calculado | %<br>Recuperación | Promedio | Desviación<br>Estándar | %<br>CV |
|                                 | 10.9075            | 9.1040            | 10.996   | .521                   | 4.74    |
|                                 | 11.2490            | 6.2579            |          |                        |         |
|                                 | 10.5856            | 11.7866           |          |                        |         |
|                                 | 10.4818            | 12.6518           |          |                        |         |
|                                 | 11.7606            | 1.9954            |          |                        |         |
| PUNTO<br>ALTO<br>(18<br>µg/ml)  | Valor<br>Calculado | %<br>Recuperación | Promedio | Desviación<br>Estándar | %<br>CV |
|                                 | 20.6409            | -14.6714          | 19.378   | 1.145                  | 5.91    |
|                                 | 20.5774            | -14.3187          |          |                        |         |
|                                 | 18.5120            | -2.8442           |          |                        |         |
|                                 | 20.6774            | -14.8744          |          |                        |         |
|                                 | 18.9448            | -5.2490           |          |                        |         |

| THC                             |                    |                   |          |                        |       |
|---------------------------------|--------------------|-------------------|----------|------------------------|-------|
| LÍMITE<br>DE<br>CUANT           | Valor<br>Calculado | %<br>Recuperación | Promedio | Desviación<br>Estándar | % CV  |
|                                 | 2.00               | 0.24              | 1.951    | 0.096                  | 4.918 |
|                                 | 2.063              | -3.132            |          |                        |       |
|                                 | 1.995              | 0.245             |          |                        |       |
|                                 | 1.851              | 7.428             |          |                        |       |
|                                 | 1.848              | 7.585             |          |                        |       |
| PUNTO<br>BAJO<br>(7 µg/ml)      | Valor<br>Calculado | %<br>Recuperación | Promedio | Desviación<br>Estándar | % CV  |
|                                 | 7.4151             | -5.9298           | 7.74     | 0.279                  | 3.60  |
|                                 | 7.4793             | -6.8469           |          |                        |       |
|                                 | 7.8923             | -12.7471          |          |                        |       |
|                                 | 7.9595             | -13.7070          |          |                        |       |
|                                 | 7.9991             | -14.2726          |          |                        |       |
| PUNTO<br>MEDIO<br>(12<br>µg/ml) | Valor<br>Calculado | %<br>Recuperación | Promedio | Desviación<br>Estándar | % CV  |
|                                 | 11.1270            | 7.2746            | 11.47    | 1.277                  | 11.12 |
|                                 | 11.4851            | 4.2911            |          |                        |       |
|                                 | 10.4138            | 13.2183           |          |                        |       |
|                                 | 10.7117            | 10.7360           |          |                        |       |
|                                 | 13.6555            | -13.6791          |          |                        |       |
| PUNTO<br>ALTO<br>(18<br>µg/ml)  | Valor<br>Calculado | %<br>Recuperación | Promedio | Desviación<br>Estándar | % CV  |
|                                 | 20.4181            | -13.4338          | 20.22    | .6139                  | 3.03  |
|                                 | 20.6978            | -14.9876          |          |                        |       |
|                                 | 20.4388            | -13.5491          |          |                        |       |
|                                 | 20.7001            | -15.0007          |          |                        |       |
|                                 | 19.5304            | -8.5024           |          |                        |       |

| CBC                             |                    |                   |          |                        |       |
|---------------------------------|--------------------|-------------------|----------|------------------------|-------|
| LÍMITE<br>DE<br>CUANT           | Valor<br>Calculado | %<br>Recuperación | Promedio | Desviación<br>Estándar | % CV  |
|                                 | 2.161              | -8.076            | 2.138    | 0.163                  | 7.62  |
|                                 | 2.276              | -13.776           |          |                        |       |
|                                 | 2.290              | -14.480           |          |                        |       |
|                                 | 1.894              | 5.295             |          |                        |       |
|                                 | 2.072              | -3.577            |          |                        |       |
| PUNTO<br>BAJO<br>(7 µg/ml)      | Valor<br>Calculado | %<br>Recuperación | Promedio | Desviación<br>Estándar | % CV  |
|                                 | 7.1150             | -1.6434           | 7.41     | .3628                  | 4.89  |
|                                 | 6.9615             | 0.5497            |          |                        |       |
|                                 | 7.6938             | -9.9121           |          |                        |       |
|                                 | 7.4798             | -6.8539           |          |                        |       |
|                                 | 7.8014             | -11.4488          |          |                        |       |
| PUNTO<br>MEDIO<br>(12<br>µg/ml) | Valor<br>Calculado | %<br>Recuperación | Promedio | Desviación<br>Estándar | % CV  |
|                                 | 10.5882            | 11.7647           | 11.03    | 1.306                  | 11.84 |
|                                 | 10.5163            | 12.3643           |          |                        |       |
|                                 | 10.3471            | 13.7742           |          |                        |       |
|                                 | 10.3524            | 13.7297           |          |                        |       |
|                                 | 13.3637            | -11.3638          |          |                        |       |
| PUNTO<br>ALTO<br>(18<br>µg/ml)  | Valor<br>Calculado | %<br>Recuperación | Promedio | Desviación<br>Estándar | % CV  |
|                                 | 19.8434            | -10.2414          | 19.73    | 1.046                  | 5.30  |
|                                 | 20.6691            | -14.8283          |          |                        |       |
|                                 | 20.3222            | -12.9009          |          |                        |       |
|                                 | 20.3621            | -13.1225          |          |                        |       |
|                                 | 18.5291            | -2.9395           |          |                        |       |

### Reproducibilidad en términos de precisión y exactitud.

La exactitud se cumplió al mantener  $\pm 15\%$  de la concentración nominal en  $\geq 5$  repeticiones. La precisión se cumplió al mantener  $< 15\%$  el CV, tabla 8.

Tabla 8. Resultados de reproducibilidad para los 7 cannabinoides.

| CBDV                         |                 |                |          |                     |       |
|------------------------------|-----------------|----------------|----------|---------------------|-------|
| PUNTO<br>BAJO<br>(7 µg/ml)   | Valor Calculado | % Recuperación | Promedio | Desviación Estándar | % CV  |
|                              | 7.375           | -5.353         | 6.604    | .669.               | 10.13 |
|                              | 7.158           | -2.262         |          |                     |       |
|                              | 7.564           | -8.051         |          |                     |       |
|                              | 5.989           | 14.440         |          |                     |       |
|                              | 6.013           | 14.098         |          |                     |       |
|                              | 6.049           | 13.590         |          |                     |       |
|                              | 5.960           | 14.852         |          |                     |       |
|                              | 7.055           | -0.790         |          |                     |       |
|                              | 6.274           | 10.371         |          |                     |       |
| PUNTO<br>MEDIO<br>(12 µg/ml) | Valor Calculado | % Recuperación | Promedio | Desviación Estándar | % CV  |
|                              | 10.917          | 9.024          | 12.61    | 1.406               | 11.15 |
|                              | 11.156          | 7.034          |          |                     |       |
|                              | 10.310          | 14.081         |          |                     |       |
|                              | 13.677          | -13.972        |          |                     |       |
|                              | 13.691          | -14.091        |          |                     |       |
|                              | 13.668          | -13.901        |          |                     |       |
|                              | 13.776          | -14.800        |          |                     |       |
|                              | 12.896          | -7.471         |          |                     |       |
|                              | 13.442          | -12.016        |          |                     |       |
| PUNTO<br>ALTO<br>(18 µg/ml)  | Valor Calculado | % Recuperación | Promedio | Desviación Estándar | % CV  |
|                              | 20.152          | -11.955        | 19.65    | .555                | 2.82  |
|                              | 20.149          | -11.941        |          |                     |       |
|                              | 18.961          | -5.341         |          |                     |       |
|                              | 19.835          | -10.194        |          |                     |       |
|                              | 19.083          | -6.019         |          |                     |       |
|                              | 20.040          | -11.334        |          |                     |       |
|                              | 20.333          | -12.964        |          |                     |       |
|                              | 18.975          | -5.418         |          |                     |       |
|                              | 19.402          | -7.789         |          |                     |       |

| CBG                          |                 |                |          |                     |       |
|------------------------------|-----------------|----------------|----------|---------------------|-------|
| PUNTO<br>BAJO<br>(7 µg/ml)   | Valor Calculado | % Recuperación | Promedio | Desviación Estándar | % CV  |
|                              | 7.114           | -1.634         | 6.704    | .905.               | 13.50 |
|                              | 7.120           | -1.721         |          |                     |       |
|                              | 7.580           | -8.279         |          |                     |       |
|                              | 5.970           | 14.717         |          |                     |       |
|                              | 8.052           | -15.034        |          |                     |       |
|                              | 5.472           | 21.826         |          |                     |       |
|                              | 5.934           | 15.230         |          |                     |       |
|                              | 7.158           | -2.261         |          |                     |       |
|                              | 6.353           | 9.249          |          |                     |       |
|                              |                 |                |          |                     |       |
| PUNTO<br>MEDIO<br>(12 µg/ml) | Valor Calculado | % Recuperación | Promedio | Desviación Estándar | % CV  |
|                              | 10.727          | 10.608         | 12.62    | 1.276               | 10.11 |
|                              | 10.923          | 8.979          |          |                     |       |
|                              | 10.332          | 13.903         |          |                     |       |
|                              | 12.891          | -7.421         |          |                     |       |
|                              | 13.441          | -12.012        |          |                     |       |
|                              | 13.630          | -13.580        |          |                     |       |
|                              | 13.492          | -12.432        |          |                     |       |
|                              | 13.462          | -12.184        |          |                     |       |
|                              | 12.862          | -7.180         |          |                     |       |
|                              |                 |                |          |                     |       |
| PUNTO<br>ALTO<br>(18 µg/ml)  | Valor Calculado | % Recuperación | Promedio | Desviación Estándar | % CV  |
|                              | 20.397          | -13.315        | 19.46    | .662                | 3.40  |
|                              | 20.194          | -12.192        |          |                     |       |
|                              | 18.596          | -3.311         |          |                     |       |
|                              | 19.590          | -8.834         |          |                     |       |
|                              | 19.243          | -6.905         |          |                     |       |
|                              | 19.270          | -7.054         |          |                     |       |
|                              | 20.605          | -14.474        |          |                     |       |
|                              | 19.368          | -7.598         |          |                     |       |
|                              | 18.856          | -4.755         |          |                     |       |

| CBD                          |                 |                |          |                     |       |
|------------------------------|-----------------|----------------|----------|---------------------|-------|
| PUNTO<br>BAJO<br>(7 µg/ml)   | Valor Calculado | % Recuperación | Promedio | Desviación Estándar | % CV  |
|                              | 7.576           | -8.222         | 6.72     | .900                | 13.39 |
|                              | 7.488           | -6.977         |          |                     |       |
|                              | 7.544           | -7.765         |          |                     |       |
|                              | 5.555           | 20.647         |          |                     |       |
|                              | 7.633           | -9.042         |          |                     |       |
|                              | 5.901           | 15.694         |          |                     |       |
|                              | 5.765           | 17.637         |          |                     |       |
|                              | 7.473           | -6.754         |          |                     |       |
|                              | 6.446           | 7.907          |          |                     |       |
|                              |                 |                |          |                     |       |
| PUNTO<br>MEDIO<br>(12 µg/ml) | Valor Calculado | % Recuperación | Promedio | Desviación Estándar | % CV  |
|                              | 10.500          | 12.497         | 12.69    | 1.260               | 9.92  |
|                              | 10.903          | 9.144          |          |                     |       |
|                              | 10.471          | 12.745         |          |                     |       |
|                              | 13.276          | -10.633        |          |                     |       |
|                              | 13.130          | -9.419         |          |                     |       |
|                              | 13.703          | -14.192        |          |                     |       |
|                              | 13.563          | -13.023        |          |                     |       |
|                              | 13.306          | -10.880        |          |                     |       |
|                              | 13.234          | -10.287        |          |                     |       |
|                              |                 |                |          |                     |       |
| PUNTO<br>ALTO<br>(18 µg/ml)  | Valor Calculado | % Recuperación | Promedio | Desviación Estándar | % CV  |
|                              | 20.516          | -13.978        | 19.45    | .807                | 4.15  |
|                              | 20.198          | -12.209        |          |                     |       |
|                              | 18.529          | -2.937         |          |                     |       |
|                              | 18.858          | -4.767         |          |                     |       |
|                              | 18.700          | -3.891         |          |                     |       |
|                              | 19.687          | -9.370         |          |                     |       |
|                              | 20.624          | -14.577        |          |                     |       |
|                              | 20.143          | -11.907        |          |                     |       |
|                              | 18.874          | -4.853         |          |                     |       |

| THCV                         |                 |                |          |                     |       |
|------------------------------|-----------------|----------------|----------|---------------------|-------|
| PUNTO<br>BAJO<br>(7 µg/ml)   | Valor Calculado | % Recuperación | Promedio | Desviación Estándar | % CV  |
|                              | 7.640           | -9.148         | 7.09     | .7276.              | 10.25 |
|                              | 7.192           | -2.750         |          |                     |       |
|                              | 7.700           | -10.007        |          |                     |       |
|                              | 6.889           | 1.581          |          |                     |       |
|                              | 7.998           | -14.251        |          |                     |       |
|                              | 7.874           | -12.489        |          |                     |       |
|                              | 6.468           | 7.604          |          |                     |       |
|                              | 6.673           | 4.674          |          |                     |       |
|                              | 5.957           | 14.899         |          |                     |       |
|                              |                 |                |          |                     |       |
| PUNTO<br>MEDIO<br>(12 µg/ml) | Valor Calculado | % Recuperación | Promedio | Desviación Estándar | % CV  |
|                              | 10.364          | 13.636         | 12.43    | 1.119               | 9.0   |
|                              | 10.778          | 10.181         |          |                     |       |
|                              | 10.598          | 11.687         |          |                     |       |
|                              | 12.831          | -6.923         |          |                     |       |
|                              | 13.153          | -9.610         |          |                     |       |
|                              | 12.440          | -3.669         |          |                     |       |
|                              | 13.384          | -11.531        |          |                     |       |
|                              | 13.366          | -11.383        |          |                     |       |
|                              | 12.898          | -7.481         |          |                     |       |
|                              |                 |                |          |                     |       |
| PUNTO<br>ALTO<br>(18 µg/ml)  | Valor Calculado | % Recuperación | Promedio | Desviación Estándar | % CV  |
|                              | 20.271          | -12.619        | 19.47    | .675                | 3.46  |
|                              | 20.528          | -14.043        |          |                     |       |
|                              | 18.543          | -3.017         |          |                     |       |
|                              | 19.681          | -9.340         |          |                     |       |
|                              | 19.411          | -7.837         |          |                     |       |
|                              | 19.310          | -7.276         |          |                     |       |
|                              | 20.304          | -12.802        |          |                     |       |
|                              | 19.180          | -6.556         |          |                     |       |
|                              | 18.870          | -4.832         |          |                     |       |

| CBN                          |                 |                |          |                     |       |
|------------------------------|-----------------|----------------|----------|---------------------|-------|
| PUNTO<br>BAJO<br>(7 µg/ml)   | Valor Calculado | % Recuperación | Promedio | Desviación Estándar | % CV  |
|                              | 7.305           | -4.359         | 6.61     | .921                | 13.93 |
|                              | 7.779           | -11.135        |          |                     |       |
|                              | 7.927           | -13.239        |          |                     |       |
|                              | 5.719           | 18.304         |          |                     |       |
|                              | 6.664           | 4.796          |          |                     |       |
|                              | 5.797           | 17.181         |          |                     |       |
|                              | 5.469           | 21.865         |          |                     |       |
|                              | 6.904           | 1.368          |          |                     |       |
|                              | 6.642           | 5.115          |          |                     |       |
|                              |                 |                |          |                     |       |
| PUNTO<br>MEDIO<br>(12 µg/ml) | Valor Calculado | % Recuperación | Promedio | Desviación Estándar | % CV  |
|                              | 10.908          | 9.104          | 12.75    | 1.150               | 9.02  |
|                              | 11.249          | 6.258          |          |                     |       |
|                              | 10.586          | 11.787         |          |                     |       |
|                              | 13.137          | -9.478         |          |                     |       |
|                              | 13.361          | -11.338        |          |                     |       |
|                              | 13.378          | -11.479        |          |                     |       |
|                              | 13.476          | -12.303        |          |                     |       |
|                              | 13.504          | -12.533        |          |                     |       |
|                              | 13.314          | -10.950        |          |                     |       |
|                              |                 |                |          |                     |       |
|                              |                 |                |          |                     |       |
| PUNTO<br>ALTO<br>(18 µg/ml)  | Valor Calculado | % Recuperación | Promedio | Desviación Estándar | % CV  |
|                              | 18.512          | -2.844         | 19.66    | .661                | 3.36  |
|                              | 20.677          | -14.874        |          |                     |       |
|                              | 18.945          | -5.249         |          |                     |       |
|                              | 20.072          | -11.512        |          |                     |       |
|                              | 19.436          | -7.977         |          |                     |       |
|                              | 19.526          | -8.479         |          |                     |       |
|                              | 20.443          | -13.571        |          |                     |       |
|                              | 19.203          | -6.685         |          |                     |       |
|                              | 18.986          | -5.475         |          |                     |       |

| THC                          |                 |                |          |                     |      |
|------------------------------|-----------------|----------------|----------|---------------------|------|
| PUNTO<br>BAJO<br>(7 µg/ml)   | Valor Calculado | % Recuperación | Promedio | Desviación Estándar | % CV |
|                              | 7.415           | -5.930         | 6.95     | .515                | 7.41 |
|                              | 7.479           | -6.847         |          |                     |      |
|                              | 7.892           | -12.747        |          |                     |      |
|                              | 6.460           | 7.710          |          |                     |      |
|                              | 7.030           | -0.433         |          |                     |      |
|                              | 6.471           | 7.564          |          |                     |      |
|                              | 6.955           | 0.650          |          |                     |      |
|                              | 6.872           | 1.824          |          |                     |      |
|                              | 6.490           | 7.280          |          |                     |      |
|                              |                 |                |          |                     |      |
| PUNTO<br>MEDIO<br>(12 µg/ml) | Valor Calculado | % Recuperación | Promedio | Desviación Estándar | % CV |
|                              | 11.127          | 7.275          | 12.55    | .940                | 7.48 |
|                              | 11.485          | 4.291          |          |                     |      |
|                              | 10.712          | 10.736         |          |                     |      |
|                              | 12.804          | -6.700         |          |                     |      |
|                              | 12.958          | -7.980         |          |                     |      |
|                              | 13.220          | -10.165        |          |                     |      |
|                              | 13.190          | -9.916         |          |                     |      |
|                              | 13.266          | -10.549        |          |                     |      |
|                              | 12.818          | -6.817         |          |                     |      |
|                              |                 |                |          |                     |      |
|                              |                 |                |          |                     |      |
| PUNTO<br>ALTO<br>(18 µg/ml)  | Valor Calculado | % Recuperación | Promedio | Desviación Estándar | % CV |
|                              | 20.439          | -13.549        | 19.48    | .672                | 3.45 |
|                              | 20.700          | -15.00         |          |                     |      |
|                              | 19.530          | -8.502         |          |                     |      |
|                              | 19.604          | -8.911         |          |                     |      |
|                              | 19.221          | -6.786         |          |                     |      |
|                              | 19.143          | -6.350         |          |                     |      |
|                              | 20.113          | -11.737        |          |                     |      |
|                              | 18.924          | -5.132         |          |                     |      |
|                              | 18.605          | -3.360         |          |                     |      |

| CBC                          |                 |                |          |                     |      |
|------------------------------|-----------------|----------------|----------|---------------------|------|
| PUNTO<br>BAJO<br>(7 µg/ml)   | Valor Calculado | % Recuperación | Promedio | Desviación Estándar | % CV |
|                              | 7.115           | -1.643         | 6.72     | .937.               | 13.9 |
|                              | 6.962           | 0.550          |          |                     |      |
|                              | 7.480           | -6.854         |          |                     |      |
|                              | 5.962           | 14.834         |          |                     |      |
|                              | 8.468           | -20.966        |          |                     |      |
|                              | 5.742           | 17.978         |          |                     |      |
|                              | 5.765           | 17.644         |          |                     |      |
|                              | 6.789           | 3.012          |          |                     |      |
|                              | 6.627           | 5.325          |          |                     |      |
|                              |                 |                |          |                     |      |
| PUNTO<br>MEDIO<br>(12 µg/ml) | Valor Calculado | % Recuperación | Promedio | Desviación Estándar | % CV |
|                              | 10.588          | 11.765         | 12.22    | 1.134               | 9.28 |
|                              | 10.516          | 12.364         |          |                     |      |
|                              | 10.347          | 13.774         |          |                     |      |
|                              | 12.594          | -4.949         |          |                     |      |
|                              | 12.792          | -6.599         |          |                     |      |
|                              | 13.023          | -8.526         |          |                     |      |
|                              | 13.137          | -9.477         |          |                     |      |
|                              | 13.013          | -8.439         |          |                     |      |
|                              | 12.368          | -3.070         |          |                     |      |
|                              |                 |                |          |                     |      |
| PUNTO<br>ALTO<br>(18 µg/ml)  | Valor Calculado | % Recuperación | Promedio | Desviación Estándar | % CV |
|                              | 20.322          | -12.901        | 19.38    | .748                | 3.85 |
|                              | 20.362          | -13.123        |          |                     |      |
|                              | 18.529          | -2.939         |          |                     |      |
|                              | 20.131          | -11.838        |          |                     |      |
|                              | 19.147          | -6.372         |          |                     |      |
|                              | 19.396          | -7.754         |          |                     |      |
|                              | 20.135          | -11.860        |          |                     |      |
|                              | 18.849          | -4.716         |          |                     |      |
|                              | 18.509          | -2.825         |          |                     |      |

- **Estabilidad de la muestra**

Estabilidad del inyector automático.

Se identificó que en un vial con inserto con volumen de 100uL fue posible inyectar hasta 2 veces, se comparan las concentraciones de cada analito, de la primera y segunda inyección. Los resultados muestran una diferencia en porcentajes no mayor al 15% de la 1ra inyección con respecto a la 2da, tabla 9.

Tabla 9. Resultados de estabilidad en el autoinyector para los 7 cannabinoides.

| Cannabinoide | Control (µg/ml) | Concentración (Día 1) | Concentración (Día 2) | Porcentaje de recuperación |
|--------------|-----------------|-----------------------|-----------------------|----------------------------|
| CBDV         | Bajo (7)        | 7.375                 | 7.158                 | 107.03                     |
|              | Medio (12)      | 10.314                | 10.210                | 104.25                     |
|              | Alto (18)       | 18.961                | 17.665                | 98.56                      |
| CBG          | Bajo (7)        | 7.114                 | 7.120                 | 104.81                     |
|              | Medio (12)      | 13.710                | 12.683                | 105.09                     |
|              | Alto (18)       | 18.124                | 16.720                | 103.08                     |
| CBD          | Bajo (7)        | 7.576                 | 7.488                 | 102.42                     |
|              | Medio (12)      | 13.553                | 13.452                | 109.26                     |
|              | Alto (18)       | 18.529                | 17.096                | 101.27                     |
| THCV         | Bajo (7)        | 7.640                 | 7.192                 | 98.084                     |
|              | Medio (12)      | 13.481                | 12.933                | 107.36                     |
|              | Alto (18)       | 18.543                | 17.206                | 101.89                     |
| CBN          | Bajo (7)        | 7.305                 | 7.779                 | 104.91                     |
|              | Medio (12)      | 13.349                | 13.666                | 107.20                     |
|              | Alto (18)       | 18.945                | 17.793                | 101.89                     |
| THC          | Bajo (7)        | 7.415                 | 7.479                 | 105.60                     |
|              | Medio (12)      | 13.427                | 12.742                | 105.60                     |
|              | Alto (18)       | 19.530                | 17.152                | 98.70                      |
| CBC          | Bajo (7)        | 7.115                 | 6.962                 | 107.10                     |
|              | Medio (12)      | 13.364                | 12.319                | 103.36                     |
|              | Alto (18)       | 18.529                | 16.772                | 99.94                      |

### Estabilidad congelación y descongelación.

La mayoría de los porcentajes de recuperación se mantenían entre un 20 +/- % en la tabla 10.

Tabla 10. Resultados de la estabilidad con ciclos de congelación y descongelación para 7 cannabinoides

| <b>Cannabinoide</b> | <b>Control<br/>(µg/ml)</b> | <b>CONCENTRA<br/>CIÓN<br/>PROMEDIO<br/>SIN CICLOS</b> | <b>CONCENTRACIÓN<br/>PROMEDIO<br/>CON CICLOS</b> | <b>PORCENAJE DE<br/>RECUPERACIÓN</b> |
|---------------------|----------------------------|-------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|--------------------------------------|
| CBDV                | Bajo (7)                   | 7.52                                                  | 8.50                                             | 113.0%                               |
|                     | Medio (12)                 | 10.58                                                 | 12.60                                            | 119.1%                               |
|                     | Alto (18)                  | 20.04                                                 | 16.66                                            | 83.1%                                |
| CBG                 | Bajo (7)                   | 7.5                                                   | 6.61                                             | 88.1%                                |
|                     | Medio (12)                 | 11.21                                                 | 11.10                                            | 99.0%                                |
|                     | Alto (18)                  | 19.72                                                 | 15.40                                            | 78.1%                                |
| CBD                 | Bajo (7)                   | 7.96                                                  | 7.11                                             | 89.3%                                |
|                     | Medio (12)                 | 11.17                                                 | 11.15                                            | 99.8%                                |
|                     | Alto (18)                  | 19.74                                                 | 15.81                                            | 80.1%                                |
| THCV                | Bajo (7)                   | 7.6                                                   | 7.00                                             | 92.1%                                |
|                     | Medio (12)                 | 11.09                                                 | 10.21                                            | 92.0%                                |
|                     | Alto (18)                  | 19.78                                                 | 16.00                                            | 80.9%                                |
| CBN                 | Bajo (7)                   | 7.78                                                  | 7.33                                             | 94.2%                                |
|                     | Medio (12)                 | 10.99                                                 | 12.13                                            | 110.3%                               |
|                     | Alto (18)                  | 19.37                                                 | 17.17                                            | 88.6%                                |
| THC                 | Bajo (7)                   | 7.46                                                  | 6.88                                             | 92.3%                                |
|                     | Medio (12)                 | 11.47                                                 | 11.25                                            | 98.1%                                |
|                     | Alto (18)                  | 20.22                                                 | 15.92                                            | 78.8%                                |
| CBC                 | Bajo (7)                   | 7.41                                                  | 7.51                                             | 101.3%                               |
|                     | Medio (12)                 | 11.03                                                 | 12.06                                            | 109.4%                               |
|                     | Alto (18)                  | 19.73                                                 | 16.97                                            | 86.0%                                |

### Estabilidad de 24 horas.

Los analitos mantuvieron un porcentaje de precisión del  $\pm 15\%$ , con respecto a la concentración nominal. Los resultados se muestran en la tabla 11.

Tabla 11. Resultados de la estabilidad a largo plazo para 7 cannabinoides

| CBDV                |            |        |                 |                |
|---------------------|------------|--------|-----------------|----------------|
| CONTROL BAJO        | Valor Real | AUC    | Valor Calculado | % Recuperación |
| 1                   | 7          | 2396.5 | 6.165           | 11.933         |
| 2                   | 7          | 2618.9 | 6.813           | 2.671          |
| 3                   | 7          | 2771.6 | 7.258           | -3.689         |
| Promedio            | 6.745      |        |                 |                |
| Desviación Estándar | 0.549      |        |                 |                |
| % CV                | 8.152      |        |                 |                |
| CONTROL ALTO        | Valor Real | AUC    | Valor Calculado | % Recuperación |
| 1                   | 18         | 7029.9 | 19.672          | -9.289         |
| 2                   | 18         | 6466.5 | 18.030          | -0.164         |
| 3                   | 18         | 6743.7 | 18.838          | -4.654         |
| Promedio            | 18.846     |        |                 |                |
| Desviación Estándar | 0.821      |        |                 |                |
| % CV                | 6.501      |        |                 |                |
| CBG                 |            |        |                 |                |
| CONTROL BAJO        | Valor Real | AUC    | Valor Calculado | % Recuperación |
| 1                   | 7          | 2498.6 | 7.807           | -11.529        |
| 2                   | 7          | 2112.7 | 6.408           | 8.452          |
| 3                   | 7          | 2232.9 | 6.844           | 2.228          |

|                     |            |        |                 |                |
|---------------------|------------|--------|-----------------|----------------|
| Promedio            | 7.019      |        |                 |                |
| Desviación Estándar | 0.715      |        |                 |                |
| % CV                | 10.195     |        |                 |                |
| <b>CONTROL ALTO</b> | Valor Real | AUC    | Valor Calculado | % Recuperación |
| 1                   | 18         | 5721.5 | 19.488          | -8.267         |
| 2                   | 18         | 4994.2 | 16.852          | 6.378          |
| 3                   | 18         | 5351   | 18.145          | -0.806         |
| Promedio            | 18.161     |        |                 |                |
| Desviación Estándar | 1.318      |        |                 |                |
| % CV                | 7.257      |        |                 |                |

| CBD                 |            |        |                 |                |
|---------------------|------------|--------|-----------------|----------------|
| <b>CONTROL BAJO</b> | Valor Real | AUC    | Valor Calculado | % Recuperación |
| 1                   | 7          | 2526.3 | 7.880           | -12.572        |
| 2                   | 7          | 2195.7 | 6.687           | 4.465          |
| 3                   | 7          | 2226.6 | 6.799           | 2.872          |
| Promedio            | 7.122      |        |                 |                |
| Desviación Estándar | 0.658      |        |                 |                |
| % CV                | 9.249      |        |                 |                |
| <b>CONTROL ALTO</b> | Valor Real | AUC    | Valor Calculado | % Recuperación |
| 1                   | 18         | 5777   | 19.607          | -8.925         |
| 2                   | 18         | 5111.2 | 17.205          | 4.418          |
| 3                   | 18         | 5544.5 | 18.768          | -4.266         |
| Promedio            | 18.526     |        |                 |                |

|                     |            |        |                 |                |
|---------------------|------------|--------|-----------------|----------------|
| Desviación Estándar | 1.218      |        |                 |                |
| % CV                | 6.579      |        |                 |                |
| THCV                |            |        |                 |                |
| CONTROL BAJO        | Valor Real | AUC    | Valor Calculado | % Recuperación |
| 1                   | 7          | 3276.9 | 7.729           | -10.417        |
| 2                   | 7          | 2733.8 | 6.176           | 11.777         |
| 3                   | 7          | 2893.3 | 6.632           | 5.259          |
| Promedio            | 6.845      |        |                 |                |
| Desviación Estándar | 0.798      |        |                 |                |
| % CV                | 11.664     |        |                 |                |
| CONTROL ALTO        | Valor Real | AUC    | Valor Calculado | % Recuperación |
| 1                   | 18         | 7448.2 | 19.662          | -9.231         |
| 2                   | 18         | 6527.1 | 17.027          | 5.407          |
| 3                   | 18         | 6950.6 | 18.238          | -1.323         |
| Promedio            | 18.308     |        |                 |                |
| Desviación Estándar | 1.318      |        |                 |                |
| % CV                | 7.203      |        |                 |                |

|                     |            |        |                 |                |
|---------------------|------------|--------|-----------------|----------------|
| <b>CBN</b>          |            |        |                 |                |
| <b>CONTROL BAJO</b> | Valor Real | AUC    | Valor Calculado | % Recuperación |
| 1                   | 7          | 5362.4 | 7.803           | -11.478        |
| 2                   | 7          | 4452.8 | 6.255           | 10.636         |
| 3                   | 7          | 4974.9 | 7.144           | -2.058         |
| Promedio            | 7.067      |        |                 |                |

|                     |            |         |                 |                |
|---------------------|------------|---------|-----------------|----------------|
| Desviación Estándar | 0.776      |         |                 |                |
| % CV                | 10.991     |         |                 |                |
| CONTROL ALTO        | Valor Real | AUC     | Valor Calculado | % Recuperación |
| 1                   | 18         | 12448.2 | 19.862          | -10.347        |
| 2                   | 18         | 11015.8 | 17.425          | 3.196          |
| 3                   | 18         | 11598.5 | 18.416          | -2.313         |
| Promedio            | 18.567     |         |                 |                |
| Desviación Estándar | 1.225      |         |                 |                |
| % CV                | 6.602      |         |                 |                |
| THC                 |            |         |                 |                |
| CONTROL BAJO        | Valor Real | AUC     | Valor Calculado | % Recuperación |
| 1                   | 7          | 5632.3  | 7.661           | -9.437         |
| 2                   | 7          | 4788    | 6.319           | 9.735          |
| 3                   | 7          | 5231.6  | 7.024           | -0.338         |
| Promedio            | 7.009      |         |                 |                |
| Desviación Estándar | 0.671      |         |                 |                |
| % CV                | 9.588      |         |                 |                |
| CONTROL ALTO        | Valor Real | AUC     | Valor Calculado | % Recuperación |
| 1                   | 18         | 13055   | 19.459          | -8.105         |
| 2                   | 18         | 11384.4 | 16.804          | 6.647          |
| 3                   | 18         | 12052.4 | 17.865          | 0.748          |
| Promedio            | 18.042     |         |                 |                |
| Desviación Estándar | 1.336      |         |                 |                |

|      |       |  |
|------|-------|--|
| % CV | 7.407 |  |
|------|-------|--|

| CBC                 |            |        |                 |                |
|---------------------|------------|--------|-----------------|----------------|
| CONTROL BAJO        | Valor Real | AUC    | Valor Calculado | % Recuperación |
| 1                   | 7          | 3200.2 | 7.867           | -12.383        |
| 2                   | 7          | 2608.3 | 6.362           | 9.108          |
| 3                   | 7          | 2928.2 | 7.175           | -2.507         |
| Promedio            | 7.134      |        |                 |                |
| Desviación Estándar | 0.752      |        |                 |                |
| % CV                | 10.553     |        |                 |                |
| CONTROL ALTO        | Valor Real | AUC    | Valor Calculado | % Recuperación |
| 1                   | 18         | 7777.4 | 19.500          | -8.333         |
| 2                   | 18         | 6705.8 | 16.776          | 6.797          |
| 3                   | 18         | 7046.2 | 17.642          | 1.991          |
| Promedio            | 17.972     |        |                 |                |
| Desviación Estándar | 1.391      |        |                 |                |
| % CV                | 7.742      |        |                 |                |

### Estabilidad a corto plazo.

Los analitos mantuvieron un porcentaje de precisión del  $\pm 15\%$ , con respecto a la concentración nominal. Los resultados se muestran en la tabla 12.

Tabla 12. Resultados de la estabilidad a corto plazo para 7 cannabinoides

| CBDV                |             |        |                 |                |
|---------------------|-------------|--------|-----------------|----------------|
| CONTROL BAJO        | Valor Real  | AUC    | Valor Calculado | % Recuperación |
| 1                   | 7           | 2396.5 | 6.165           | 11.933         |
| 2                   | 7           | 2618.9 | 6.813           | 2.671          |
| 3                   | 7           | 2771.6 | 7.258           | -3.689         |
| Promedio            | 6.745       |        |                 |                |
| Desviación Estándar | 0.549882518 |        |                 |                |
| % CV                | 8.1520      |        |                 |                |
| CONTROL ALTO        | Valor Real  | AUC    | Valor Calculado | % Recuperación |
| 1                   | 18          | 7029.9 | 19.672          | -9.289         |
| 2                   | 18          | 6466.5 | 18.030          | -0.164         |
| 3                   | 18          | 6743.7 | 18.838          | -4.654         |
| Promedio            | 18.84639827 |        |                 |                |
| Desviación Estándar | 0.821245899 |        |                 |                |
| % CV                | 6.501       |        |                 |                |
| CBG                 |             |        |                 |                |
| CONTROL BAJO        | Valor Real  | AUC    | Valor Calculado | % Recuperación |
| 1                   | 7           | 2498.6 | 7.807           | -11.529        |
| 2                   | 7           | 2112.7 | 6.408           | 8.452          |
| 3                   | 7           | 2232.9 | 6.844           | 2.228          |

|                     |             |        |                 |                |
|---------------------|-------------|--------|-----------------|----------------|
| Promedio            | 7.019789062 |        |                 |                |
| Desviación Estándar | 0.715699708 |        |                 |                |
| % CV                | 10.195      |        |                 |                |
| <b>CONTROL ALTO</b> | Valor Real  | AUC    | Valor Calculado | % Recuperación |
| 1                   | 18          | 5721.5 | 19.488          | -8.267         |
| 2                   | 18          | 4994.2 | 16.852          | 6.378          |
| 3                   | 18          | 5351   | 18.145          | -0.806         |
| Promedio            | 18.16170732 |        |                 |                |
| Desviación Estándar | 1.318080188 |        |                 |                |
| % CV                | 7.257       |        |                 |                |

| CBD                 |             |        |                 |                |
|---------------------|-------------|--------|-----------------|----------------|
| <b>CONTROL BAJO</b> | Valor Real  | AUC    | Valor Calculado | % Recuperación |
| 1                   | 7           | 2526.3 | 7.880           | -12.572        |
| 2                   | 7           | 2195.7 | 6.687           | 4.465          |
| 3                   | 7           | 2226.6 | 6.799           | 2.872          |
| Promedio            | 7.122145666 |        |                 |                |
| Desviación Estándar | 0.658730596 |        |                 |                |
| % CV                | 9.249       |        |                 |                |
| <b>CONTROL ALTO</b> | Valor Real  | AUC    | Valor Calculado | % Recuperación |
| 1                   | 18          | 5777   | 19.607          | -8.925         |
| 2                   | 18          | 5111.2 | 17.205          | 4.418          |
| 3                   | 18          | 5544.5 | 18.768          | -4.266         |

|                     |             |  |
|---------------------|-------------|--|
| Promedio            | 18.52637591 |  |
| Desviación Estándar | 1.218963808 |  |
| % CV                | 6.579       |  |

| THCV                |             |        |                 |                |
|---------------------|-------------|--------|-----------------|----------------|
| CONTROL BAJO        | Valor Real  | AUC    | Valor Calculado | % Recuperación |
| 1                   | 7           | 3276.9 | 7.729           | -10.417        |
| 2                   | 7           | 2733.8 | 6.176           | 11.777         |
| 3                   | 7           | 2893.3 | 6.632           | 5.259          |
| Promedio            | 6.846       |        |                 |                |
| Desviación Estándar | 0.79852837  |        |                 |                |
| % CV                | 11.664      |        |                 |                |
| CONTROL ALTO        | Valor Real  | AUC    | Valor Calculado | % Recuperación |
| 1                   | 18          | 7448.2 | 19.662          | -9.231         |
| 2                   | 18          | 6527.1 | 17.027          | 5.407          |
| 3                   | 18          | 6950.6 | 18.238          | -1.323         |
| Promedio            | 18.30877052 |        |                 |                |
| Desviación Estándar | 1.318858328 |        |                 |                |
| % CV                | 7.203       |        |                 |                |

| CBN                 |             |         |                 |                |
|---------------------|-------------|---------|-----------------|----------------|
| CONTROL BAJO        | Valor Real  | AUC     | Valor Calculado | % Recuperación |
| 1                   | 7           | 5362.4  | 7.803           | -11.478        |
| 2                   | 7           | 4452.8  | 6.255           | 10.636         |
| 3                   | 7           | 4974.9  | 7.144           | -2.058         |
| Promedio            | 7.067670751 |         |                 |                |
| Desviación Estándar | 0.776815508 |         |                 |                |
| % CV                | 10.991      |         |                 |                |
| CONTROL ALTO        | Valor Real  | AUC     | Valor Calculado | % Recuperación |
| 1                   | 18          | 12448.2 | 19.862          | -10.347        |
| 2                   | 18          | 11015.8 | 17.425          | 3.196          |
| 3                   | 18          | 11598.5 | 18.416          | -2.313         |
| Promedio            | 18.56778421 |         |                 |                |
| Desviación Estándar | 1.225894266 |         |                 |                |
| % CV                | 6.602       |         |                 |                |

| THC                 |             |        |                 |                |
|---------------------|-------------|--------|-----------------|----------------|
| CONTROL BAJO        | Valor Real  | AUC    | Valor Calculado | % Recuperación |
| 1                   | 7           | 5632.3 | 7.661           | -9.437         |
| 2                   | 7           | 4788   | 6.319           | 9.735          |
| 3                   | 7           | 5231.6 | 7.024           | -0.338         |
| Promedio            | 7.000921908 |        |                 |                |
| Desviación Estándar | 0.671294663 |        |                 |                |
| % CV                | 9.588       |        |                 |                |

| <b>CONTROL ALTO</b> | Valor Real  | AUC     | Valor Calculado | % Recuperación |
|---------------------|-------------|---------|-----------------|----------------|
| 1                   | 18          | 13055   | 19.459          | -8.105         |
| 2                   | 18          | 11384.4 | 16.804          | 6.647          |
| 3                   | 18          | 12052.4 | 17.865          | 0.748          |
| Promedio            | 18.04257202 |         |                 |                |
| Desviación Estándar | 1.336553865 |         |                 |                |
| % CV                | 7.407       |         |                 |                |

| <b>CBC</b>          |             |        |                 |                |
|---------------------|-------------|--------|-----------------|----------------|
| <b>CONTROL BAJO</b> | Valor Real  | AUC    | Valor Calculado | % Recuperación |
| 1                   | 7           | 3200.2 | 7.867           | -12.383        |
| 2                   | 7           | 2608.3 | 6.362           | 9.108          |
| 3                   | 7           | 2928.2 | 7.175           | -2.507         |
| Promedio            | 7.13491418  |        |                 |                |
| Desviación Estándar | 0.752993577 |        |                 |                |
| % CV                | 10.553      |        |                 |                |
| <b>CONTROL ALTO</b> | Valor Real  | AUC    | Valor Calculado | % Recuperación |
| 1                   | 18          | 7777.4 | 19.500          | -8.333         |
| 2                   | 18          | 6705.8 | 16.776          | 6.797          |
| 3                   | 18          | 7046.2 | 17.642          | 1.991          |
| Promedio            | 17.97269523 |        |                 |                |
| Desviación Estándar | 1.391622761 |        |                 |                |
| % CV                | 7.742       |        |                 |                |

- **Efecto matriz**

Se determinó si la matriz en la que se encuentran los analitos tiene algún efecto en su detección final, se comparó la matriz (crema y aceite) y el diluyente (metanol: agua, 80:20). La diferencia en promedios de áreas no supero el +/- 20%, tomando al diluyente como 100%

El aceite utilizado, fue aceite de oliva, los resultados se muestran en la tabla 13.

Tabla 13. Resultados del efecto matriz con aceite de los 7 cannabinoides

| Cannabinoide | Matriz          | Promedio AUC | Porcentaje |
|--------------|-----------------|--------------|------------|
| CBDV         | Metanol: Agua   | 1395.44      | 100%       |
|              | Aceite de oliva | 1316.27      | 94.33%     |
| CBG          | Metanol: Agua   | 1132.16      | 100%       |
|              | Aceite de oliva | 1040.75      | 91.93%     |
| CBD          | Metanol: Agua   | 1122.71      | 100%       |
|              | Aceite de oliva | 1024.02      | 91.21%     |
| THCV         | Metanol: Agua   | 1447.06      | 100%       |
|              | Aceite de oliva | 1345.63      | 92.99%     |
| CBN          | Metanol: Agua   | 2367.37      | 100%       |
|              | Aceite de oliva | 2177.11      | 91.96%     |
| THC          | Metanol: Agua   | 2462.97      | 100%       |
|              | Aceite de oliva | 2211.38      | 89.78%     |
| CBC          | Metanol: Agua   | 1336.71      | 100%       |
|              | Aceite de oliva | 1147.36      | 85.83%     |

La crema utilizada, fue crema sin cannabinoides, a base de aceite de almendras y glicerina, los resultados se muestran en la tabla 14.

Tabla 14. Resultados del efecto matriz con crema de los 7 cannabinoides

| Cannabinoide | Matriz        | Promedio<br>AUC | Porcentaje |
|--------------|---------------|-----------------|------------|
| CBDV         | Metanol: Agua | 1013.97         | 100%       |
|              | Crema         | 1047.83         | 103.3%     |
| CBG          | Metanol: Agua | 821.33          | 100%       |
|              | Crema         | 768.53          | 93.57%     |
| CBD          | Metanol: Agua | 828.66          | 100%       |
|              | Crema         | 782.50          | 94.42%     |
| THCV         | Metanol: Agua | 1036.33         | 100%       |
|              | Crema         | 942.10          | 90.90%     |
| CBN          | Metanol: Agua | 2113.33         | 100%       |
|              | Crema         | 1947.13         | 92.13%     |
| THC          | Metanol: Agua | 1978.0          | 100%       |
|              | Crema         | 1656.06         | 83.72%     |
| CBC          | Metanol: Agua | 1310.33         | 100%       |
|              | Crema         | 1211.67         | 92.47%     |

## CROMATOGRAMAS

En la figura 6, se muestran algunos de los cromatogramas obtenidos tras el desarrollo del método, la validación y el análisis de los 7 cannabinoides en productos para uso humano.

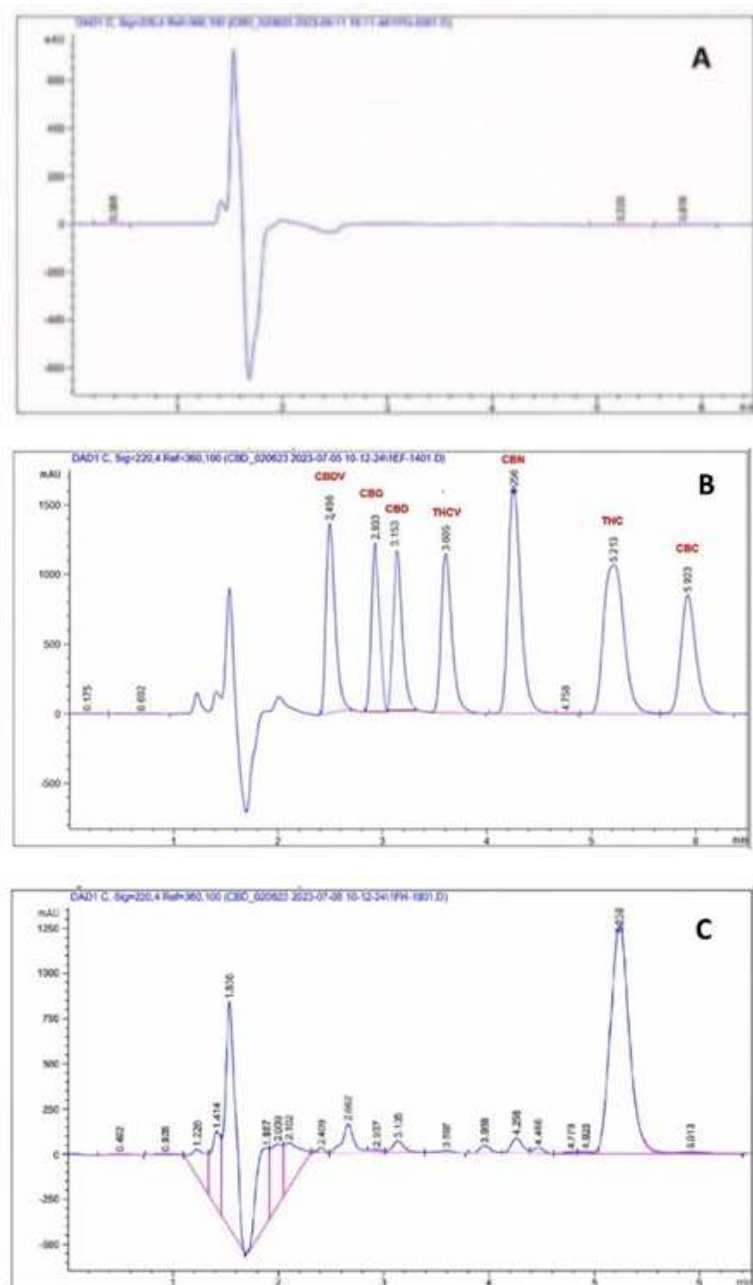


Figura 6. Cromatogramas: A) Blanco (metanol), B) Estándar (25 µg/ml), C) Producto #13 (crema).

## CONCENTRACIONES DE CANNABINOIDES EN LOS PRODUCTOS.

Se analizaron un total de 17 productos adquiridos de compras en físico tiendas en línea de México. En la tabla 15, se muestra el análisis de los productos donde se incluye la imagen del producto, el nombre con el cual están etiquetados, la concentración reportada en el etiquetado, así como aquella que realmente se encontró después del análisis.

Se identificaron las siguientes inconsistencias, tabla 15, de los 17 productos adquiridos, el 47% (8 productos: producto 1, 2, 3, 12, 13, 15, 16 y 17) conformaban productos no etiquetados, sin concentraciones reportadas, sin marca registrada. De estos productos sin etiquetar, el 62.5% de ellos (5 productos: 12, 13, 15, 16 y 17) contenían cannabinoides por debajo del límite de cuantificación (CBD, CBDV, CBN, THC) y en general mostraban menores concentración de cannabinoides en comparación con aquellos productos de marca registrada, los cuales representan el 53% del total de productos analizados (9 productos), lo que se podría traducir en productos muy diluidos o deficientes en cuanto a su concentración. Esto resulta relevante porque muchos de estos productos son fácilmente comercializados con la falsa publicidad de contener cannabinoides principalmente CBD que garantizar un beneficio a la salud del consumidor, cuando en realidad las concentraciones son muy mínimas para producir dichos efectos, implicando únicamente un gasto innecesario para la población.

Es importante destacar que, de los 17 productos, en 12 se cuantificó de manera confiable al menos un cannabinoide por arriba del límite de cuantificación (productos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 y 13), mientras que en 5 productos (12, 14, 15, 16 y 17) la totalidad de los cannabinoides reportados se ubicó por debajo del límite de cuantificación.

Continuando con el análisis de las concentraciones del cannabinoide CBD en el total de los productos, se mostraron los siguientes resultados, en el 100% de los productos (17) se esperaba tener únicamente concentraciones de CBD, el 53% (9 productos: 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 14) al ser de una marca registrada manifiestan las concentraciones de CBD, sin embargo, de estos, solo el 33% (3 productos: 4, 6 y

10) mostraron un etiquetado correcto con respecto a lo encontrado, mientras que el 33% (3 productos: 5, 9 y 14) se encuentran sobreetiquetados con por lo menos 10% de concentración por debajo de lo reportado y el resto 33% (3 productos: 7, 8 y 11) estaban, subetiquetados con por lo menos 10% de concentración por arriba de lo reportado, importante mencionar que el 10% (1 producto), no fue posible ni siquiera su cuantificación, únicamente su detección. El umbral de precisión del 10% es consistente con estudios comparables previos y estándares establecidos para los productos herbales de la Farmacopea de EE. UU. y los estándares emergentes de la industria del cannabis.

Mientras que, situación previamente menciona, de aquellos 8 productos que no muestran etiquetado, el 62.5% (5 productos) no contenían CBD (1 producto) o se encontraba por debajo de límite de cuantificación (2 productos) y 37.5% (3 productos) si contienen, pero en concentraciones mucho menor que aquellos de marca registrada con hasta 87% de menor concentración.

Algo relevante de resaltar es que en la actualidad se ha incrementado el interés por el análisis de otros cannabinoides presentes en productos derivados de cannabis, esto asociado a los últimos resultados reportados en la literatura, sobre un posible efecto sequito o de sinergia que podría mejorar las acciones de cannabis ante ciertas condiciones patológicas o fisiológicas.

Como resultados, se encontró que en el 26% de los productos (4 productos: 7, 9, 13 y 14), de los cuales 3 provenían de productos etiquetados y 1 de no etiquetados, hay presencia de otros cannabinoides como son THCV, CBN, CBC y CBDV, que, aunque están en concentraciones por debajo del límite de cuantificación podrían actuar por medio de un efecto sequito, generando mayores beneficios y mejorando tolerancia en la población.

Finalmente, con respecto a las concentraciones reportadas de THC, compuesto estudiado por atribuir los efectos psicotrópicos a la planta de cannabis y sus derivados, se encontraron los siguientes resultados.

Posiblemente por estos antecedentes o quizá porque legamente dicho cannabinoide aún se encuentra muy restringidos, todos los productos analizados tanto aquellos adquiridos de una marca registrada con concentraciones reportadas y aquellos sin marca registrada ni concentraciones reportadas, garantizaban la ausencia del cannabinoide THC, reportando la presencia únicamente de CBD. Sin embargo, del 100% de los productos (17), en el 58% (10 productos: 3, 5, 6, 7, 12, 14, 13, 15, 16 y 17) se identificó la presencia de THC en su contenido, de estos productos el 75% procedían de productos sin marca registrada (6 productos: 3, 12, 13, 15, 16 y 17) y el 33.3% (4 productos: 5, 7, 6 y 14) eran de productos de marca registrada aparente. Del total de productos identificados con THC, sean comercializados con marca registrada o no (9 productos), el 22% (2 productos) contenían concentraciones de THC por arriba del límite legal permitido, 1 producto de marca registrada y 1 productos sin marca ( $<0.03\%$ ) mientras que el resto de productos 78% contenían concentraciones dentro del límite permitido para THC, ya que, de forma más específica, no fue posible su contabilización, únicamente su detección.

Para fines de trazabilidad regulatoria, conviene precisar que el marco normativo mexicano vigente clasifica como cáñamo industrial, (no sujeto al régimen de estupefacientes) a los derivados de cannabis cuya concentración de THC sea igual o menor al 1 % en peso del material (Secretaría de Salud, 2021,

Dado que en este estudio las concentraciones se reportan en unidades de concentración volumétrica o másica (mg/mL o mg/g) y no como porcentaje en peso, se realiza la siguiente conversión para su estimación

Con estas respectivas concentraciones y según lo establecido en el artículo del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Control Sanitario para la Producción, Investigación y Uso Medicinal de la Cannabis y sus Derivados Farmacológicos (DOF 12/01/2021), (Secretaría de Salud, 2021, (Cámara de Diputados del H. Congreso de la Unión, 2021)), se realizó la comparación, y se permite catalogar como un excedente del límite permitido.

Uno de los principales hallazgos de este estudio fue la diferencia encontrada entre las concentraciones reportadas en el etiquetado y lo que realmente contienen dichos productos obtenido de forma experimental. Sin considerar el hecho de que casi la mitad de los productos no mencionaban composición de los cannabinoides, limitando la capacidad del consumidor para conocer la cantidad real de cannabinoides a la que puede estar expuesto. Sin embargo, como nuestros resultados demostraron, la presencia de información en el etiquetado no necesariamente garantiza que el contenido del producto corresponda con lo declarado por el fabricante, esto puede afectar negativamente los efectos fisiológicos esperados para los cannabinoides reportados en especial de CBD, puede representar un problema cuando el consumidor adquiere el producto con la expectativa de recibir una cantidad determinada del cannabinoide, en nuestros resultados algunos de los productos analizados presentaron concentraciones de CBD muy inferiores a las esperadas.

Los resultados obtenidos son comparables con investigaciones realizadas a nivel internacional, donde también se ha documentado inconsistencias entre la concentración de CBD declarada y la determinada analíticamente. Gidal y colaboradores en el 2024, analizaron 202 productos comerciales, observaron que 74% presentaron una desviación de al menos 10 % respecto a la concentración declarada, lo que evidencia que las inconsistencias observadas en el presente estudio no constituyen un fenómeno aislado y pueden representar una problemática recurrente en la comercialización de productos derivados de CBD. En otro estudio publicado por Bonn-Miller y colaboradores en el 2017 analizaron 84 productos de 31 compañías y se encontraron porcentajes de variaciones muy similares a nuestros resultados. Esto permite inducir que nuestros resultados tienen una tendencia similar con publicaciones antes reportadas, aunque la muestra de nuestro estudio sea más pequeña.

Otro hallazgo relevante fue la presencia de otros cannabinoides además del CBD, entre ellos, THCV, CBN, CBC y/o CBDV, es importante mencionar que la presencia de estos compuestos resulta de interés debido a que la actividad biológica de los

productos derivados de Cannabis depende únicamente del CBD, se ha propuesto que diferentes componentes de la planta pueden interactuar entre sí y modificar respuestas biológicas, a esto se le conoce como “efecto séquito”. Sin embargo, las concentraciones encontradas de estos cannabinoides estaban por debajo del límite de cuantificación, por lo que los resultados no permiten establecer si estas cantidades son suficientes para producir un efecto farmacológico, ni demostrar la existencia de un efecto séquito.

Simei y colaboradores en el 2024, abordan el interés científico de la interacción entre múltiples componentes del cannabis, pero que la evidencia actual todavía es insuficiente para considerar el efecto séquito como un fenómeno estable, predecible y clínicamente demostrado, esta referencia en relación con nuestros resultados, permite concluir que la identificación de otros cannabinoides, aun en concentraciones inferiores al límite de cuantificación, resulta de interés debido a la posibilidad de interacciones farmacológicas entre múltiples componentes del cannabis.

Dentro de nuestros resultados más sobresalientes se encontró la presencia de THC en la mayoría de los productos analizados, a pesar de que todos los productos declaraban o se comercializaban con la ausencia de este cannabinoide, incluso algunos productos superaron el límite permitido. Estos resultados son comparables con investigaciones previas que han identificado THC en productos comercializados como derivados de cáñamo o CBD. Como es el caso de Miller y colaboradores en el 2022, que detectaron THC en 35 % de 105 productos analizados, incluyendo productos que se declaraban libres de THC. Tanto esos resultados como los nuestros, evidencian una discrepancia entre la composición declarada y la composición cannabinoide determinada analíticamente.

Los productos comercializados en México presentan en algunos casos información limitada sobre su composición, discrepancias entre las concentraciones declaradas y las determinadas experimentalmente, así como la detección de THC no declarado, en concordancia con estudios previamente publicados como Bakowska A en el 2022 que reportaron en un análisis de 88 productos un etiquetado incorrecto en el 55%

de los casos, o bien, los resultados publicados por Salehi A, et al., 2022 con un informe de compras en línea con inconsistencia en el 43% de los productos como subetiquetados y 26% sobreetiquetados, así como una detección de THC en el 21% de estos.

Esto resalta la necesidad de fortalecer la caracterización analítica y los mecanismos de control de calidad de este tipo de productos. Estos hallazgos son relevantes en un contexto en el que los consumidores pueden seleccionar estos productos basándose en la información proporcionada en el etiquetado, debido a que los efectos biológicos demostrados en diferentes condiciones de salud, suelen ser dosis dependiente, como se describe a profundidad en el siguiente apartado con los resultados de diferentes concentraciones de cannabinoides y sus efectos a nivel endotelial.

Tabla 15. Concentraciones de cannabinoides obtenidas por HPLC/DAD, con respecto a lo reportado en el etiquetado.

| PRODUCTO #1                                                                         | ACEITE DE CANNABIS SIN CONCENTRACIÓN REPORTADA |                                        |
|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|----------------------------------------|
|                                                                                     | Concentración reportada (Etiquetada)           | Concentración promedio obtenida (HPLC) |
|  |                                                |                                        |
|                                                                                     | Desconocida                                    | CBD = 2.11 +/- 0.27 mg/ml              |
| PRODUCTO #2                                                                         | ACEITE DE CANNABIS SIN CONCENTRACIÓN REPORTADA |                                        |
|                                                                                     | Concentración reportada (Etiquetada)           | Concentración promedio obtenida (HPLC) |
|  |                                                |                                        |
|                                                                                     | Desconocida                                    | CBD = .862 +/- 0.03 mg/ml              |

| PRODUCTO #3                                                                       | ACEITE DE CANNABIS DESCARBOXILADO SIN<br>CONCENTRACIÓN REPORTADA |                                                        |
|-----------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|
|  | Concentración reportada<br>(Etiquetada)                          | Concentración promedio<br>obtenida (HPLC)              |
|                                                                                   | Desconocida                                                      | CBD = 4.40 +/- 0.006 mg/ml<br>THC = Por debajo del LC. |

| PRODUCTO #4                                                                       | ACEITE DE CANNABIS – INFUSIÓN FLORAL    |                                           |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|-------------------------------------------|
|  | Concentración reportada<br>(Etiquetada) | Concentración promedio<br>obtenida (HPLC) |
|                                                                                   | CBC = 4 mg/ml                           | CBD = 4.30 +/- 0.89 mg/ml                 |

| PRODUCTO #5                                                                         | ACEITE DE CANNABIS – CANNANI<br>1000 mg / 10ML |                                                         |
|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|
|  | Concentración reportada<br>(Etiquetada)        | Concentración promedio<br>obtenida (HPLC)               |
|                                                                                     | CBD = 100 mg/mL                                | CBD = 14.31 +/- 1.74 mg/ml<br>THC = 4.55 +/- 1.08 mg/ml |

| PRODUCTO #6                                                                       | ACEITE DE CANNABIS – CANNANI<br>THCA 500 mg en 10 MI |                                                         |
|-----------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|
|                                                                                   | Concentración reportada<br>(Etiquetada)              | Concentración promedio<br>obtenida (HPLC)               |
|  | THCA = 50 mg/mL                                      | CBD = 4.47 +/- 1.43 mg/ml<br>THC = 11.33 +/- .603 mg/ml |

| PRODUCTO #7                                                                       | TINTURA DE CANNABIS – CBD LIFE<br>125 mg en 30 MI |                                                                                  |
|-----------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|
|                                                                                   | Concentración reportada<br>(Etiquetada)           | Concentración promedio<br>obtenida (HPLC)                                        |
|  | CBD = 4.16 mg/mL                                  | CBD = 6.67 +/- 0.87 mg/ml<br>THC = Por debajo del LC.<br>CBN = Por debajo del LC |

| PRODUCTO #8                                                                         | ACEITE DE CANNABIS – PARADISE<br>500 mg en 30 MI |                                           |
|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|-------------------------------------------|
|                                                                                     | Concentración reportada<br>(Etiquetada)          | Concentración promedio<br>obtenida (HPLC) |
|  | CBD = 16.6 mg/mL                                 | CBD = 21.42 +/- 1.87 mg/ml                |

| PRODUCTO #9                                                                       | BÁLSAMO – CBD LIFE                      |                                                       |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|-------------------------------------------------------|
|                                                                                   | 50 mg en 90 g                           |                                                       |
|  | Concentración reportada<br>(Etiquetada) | Concentración promedio<br>obtenida (HPLC)             |
|                                                                                   | CBD = .55 mg/g                          | CBD = .168 +/- 0.025 mg/g<br>THCV = Por debajo del LC |

| PRODUCTO #10                                                                       | POMADA – PARADISE                       |                                           |
|------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|-------------------------------------------|
|                                                                                    | 150 mg en 90 g                          |                                           |
|  | Concentración reportada<br>(Etiquetada) | Concentración promedio<br>obtenida (HPLC) |
|                                                                                    | CBD = 1.6 mg/g                          | CBD = 2.21 +/- .41 mg/g                   |

| PRODUCTO #11                                                                        | ACEITE DE CANNABIS – PARADISE           |                                           |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|-------------------------------------------|
|                                                                                     | 2000 mg en 30 ML                        |                                           |
|  | Concentración reportada<br>(Etiquetada) | Concentración promedio<br>obtenida (HPLC) |
|                                                                                     | CBD = 66.6 mg/ml                        | CBD = 102.18 +/- 15.83 mg/ml              |

| PRODUCTO #12                                                                      | CREMA DE CANNABIS SIN CONCENTRACIÓN REPORTADA |                                                      |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|------------------------------------------------------|
|                                                                                   | Concentración reportada (Etiquetada)          | Concentración promedio obtenida (HPLC)               |
|  |                                               |                                                      |
|                                                                                   | Desconocida                                   | CBDV = Por debajo del LC.<br>THC= Por debajo del LC. |

| PRODUCTO #14                                                                      | ACEITE DE CANNABIS – SANIYE<br>3000 mg en 30 ML |                                                    |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|----------------------------------------------------|
|                                                                                   | Concentración reportada (Etiquetada)            | Concentración promedio obtenida (HPLC)             |
|  |                                                 |                                                    |
|                                                                                   | CBD = 100 mg/mL                                 | CBD = Por debajo del LC<br>CBN = Por debajo del LC |

| PRODUCTO #13                                                                        | CREMA DE CANNABIS SIN CONCENTRACIÓN REPORTADA |                                                                                                            |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                                                     | Concentración reportada (Etiquetada)          | Concentración promedio obtenida (HPLC)                                                                     |
|  |                                               |                                                                                                            |
|                                                                                     | Desconocida                                   | CBDV = Por debajo del LC<br>CBD = Por debajo del LC<br>CBN = Por debajo del LC<br>THC = 2.66 +/- 0.37 mg/g |

| PRODUCTO #15                                                                      | ACEITE DE CANNABIS. TINTURA DE CBD<br>SIN CONCENTRACIÓN REPORTADA |                                           |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|
|                                                                                   | Concentración reportada<br>(Etiquetada)                           | Concentración promedio<br>obtenida (HPLC) |
|  |                                                                   |                                           |
|                                                                                   | Desconocida                                                       | THC = Por debajo del LC                   |

| PRODUCTO #16                                                                       | ACEITE DE CANNABIS. Orizaba<br>SIN CONCENTRACIÓN REPORTADA |                                           |
|------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|
|                                                                                    | Concentración reportada<br>(Etiquetada)                    | Concentración promedio<br>obtenida (HPLC) |
|  |                                                            |                                           |
|                                                                                    | Desconocida                                                | THC = Por debajo del LC                   |

| PRODUCTO #17                                                                        | ACEITE DE CANNABIS. Orizaba<br>SIN CONCENTRACIÓN REPORTADA |                                           |
|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|
|                                                                                     | Concentración reportada<br>(Etiquetada)                    | Concentración promedio<br>obtenida (HPLC) |
|  |                                                            |                                           |
|                                                                                     | Desconocida                                                | THC = Por debajo del LC                   |

Tabla 16. Análisis porcentual de las diferencias encontradas en el etiquetado de

| <b>PRODUCTOS COMERCIALIZADOS DE CANNABIS</b> |                                                                          |                                                                               |                            |
|----------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|
|                                              | SIN MARCA Y SIN ETIQUETADO                                               | CON MARCA Y CON ETIQUETADO                                                    | DEL TOTAL DE PRODUCTOS     |
| <b>% DE PRODUCTOS</b>                        | <b>47% (8 productos)</b>                                                 | <b>53% (9 productos)</b>                                                      | <b>100% (17 productos)</b> |
| <b>% Productos con CBD</b>                   | <b>62.5% (5 productos)</b>                                               | <b>100% (9 productos)</b>                                                     | <b>82% (14 productos)</b>  |
| % Subetiquetados (<10%)                      | N/A                                                                      | 33% (3 productos)                                                             | 17.6% (3 productos)        |
| % Sobretiquetados (>10%)                     | N/A                                                                      | 33% (3 productos)<br><i>“Debajo del límite de cuantificación: 1 producto”</i> | 17.6% (3 productos)        |
| % Etiquetado con precisión                   | N/A                                                                      | 33% (3 productos)                                                             | 17.6% (3 productos)        |
| <b>% Productos con THC</b>                   | <b>75% (6 productos)</b>                                                 | <b>33% (4 productos)</b>                                                      | <b>58% (10 productos)</b>  |
| % En límite permitido                        | 62.5% (6 productos)<br><i>“Debajo del límite de cuantificación: 6”</i>   | 22% (2 productos)<br><i>Debajo del límite de cuantificación: 2</i>            | 52% (8 productos)          |
| % Sobrepasa límite permitido                 | 0                                                                        | 11% (2 productos)                                                             | 6% (1 productos)           |
| <b>% Productos con otros cannabinoides</b>   | <b>20% (1 producto)</b><br><i>Debajo del límite de cuantificación: 1</i> | <b>33% (3 productos)</b><br><i>Debajo del límite de cuantificación: 3</i>     | <b>23.5% (4 productos)</b> |

productos de cannabis para uso humano.

## VIII. CONCLUSIÓN

Se desarrolló y validó un método analítico de HPLC / DAD, que permitió la cuantificación de 7 cannabinoides en productos comerciales de cremas y aceites. Se identificó que existe diferencia en las concentraciones de cannabinoides en productos comercializados con respecto a lo reportado en su etiquetado. Esto podría tener un impacto directo en las personas que adquieran los productos, ocasionando, por un lado, un efecto terapéutico nulo, al no alcanzar las concentraciones establecidas de CBD y por otro un riesgo para la salud al superar el límite permitido de THC. Se diseñó un modelo de esferoides en cultivo celular de células de endotelio sanas y enfermas, el cual permitió identificar que en este estudio no muestra diferencia en la viabilidad celular de ambos modelos de células endoteliales. Así mismo, no se observó efecto citotóxico proveniente de las diferentes muestras de aceites de cannabis y se demostró actividad antioxidante proveniente de ciertos aceites de cannabis, así como un incremento en la expresión de un receptor cannabinoide CB1 con todas las concentraciones de aceites probadas, en condiciones enfermas, lo que podría estar asociando a los fisiológicos atribuidos a Cannabis y extractos derivados, estos podrían mejorar condiciones clínicas del daño endotelial, estos hallazgos in vitro sugieren un efecto biológico compatible con un papel protector de los cannabinoides estudiados a nivel endotelial, que debe confirmarse mediante estudios adicionales in vivo, con evaluación de dosis-respuesta y farmacocinética, antes de inferir un beneficio clínico”.

## IX. BIBLIOGRAFÍA.

- 1) Analakkattillam, S., Langsi, V. K., Hanrahan, J. P., & Moore, E. (2022). Analytical method validation for assay determination of cannabidiol and tetrahydrocannabinol in hemp oil infused products by RP-HPLC. *Scientific Reports*, 12, 12453. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-13737-6>
- 2) Atalay, S., Jarocka-Karpowicz, I., & Skrzydlewska, E. (2020). Antioxidative and anti-inflammatory properties of cannabidiol. *Antioxidants*, 9(1), 21. <https://doi.org/10.3390/antiox9010021>
- 3) Bakowska-Barczak, A., Esparza, Y., Kaur, H., & Popek, T. (2022). Industrial hemp-based dietary supplements and cosmetic products. In M. Pojić & B. K. Tiwari (Eds.), *Industrial hemp: Food and nutraceutical applications* (pp. 247–299). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90910-5.00010-5>
- 4) Biernacki, M., Malinowska, B., Timoszuć, M., Toczek, M., Jastrząb, A., Remiszewski, P., & Skrzydlewska, E. (2018). Hypertension and chronic inhibition of endocannabinoid degradation modify the endocannabinoid system and redox balance in rat heart and plasma. *Prostaglandins & Other Lipid Mediators*, 138, 54–63. <https://doi.org/10.1016/j.prostaglandins.2018.09.001>
- 5) Booth, J. K., Page, J. E., & Bohlmann, J. (2017). Terpene synthases from *Cannabis sativa*. *PLoS ONE*, 12(3), e0173911. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173911>
- 6) Bonn-Miller, M. O., Loflin, M. J. E., Thomas, B. F., Marcu, J. P., Hyke, T., & Vandrey, R. (2017). Labeling accuracy of cannabidiol extracts sold online. *JAMA*, 318(17), 1708–1709. <https://doi.org/10.1001/jama.2017.11909>
- 7) Boulebd, H., Pereira, D. M., Khodja, I. A., Hoa, N. T., Mechler, A., & Vo, Q. V. (2022). Assessment of the free radical scavenging potential of cannabidiol under physiological conditions: Theoretical and experimental investigations. *Journal of Molecular Liquids*, 346, 118277. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.118277>
- 8) Burckel, H., Antoni, D., Josset, E., & Noel, G. (2015). Three-dimensional cell culture: A breakthrough in vivo. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(3), 5517–5527. <https://doi.org/10.3390/ijms16035517>
- 9) Cámara de Diputados del H. Congreso de la Unión. (2026). Ley General de Salud. <https://www.diputados.gob.mx/LeyesBiblio/pdf/LGS.pdf>
- 10) Ceresa, C., Delsignore, M., Maly, M., Carrà, F., Beneš, F., Sansotera, A. C., Camola, A., Arlorio, M., Porta, C., Fracchia, L., Disca, V., & Pollastro, F. (2025). Targeting the antioxidant, antimicrobial and anti-inflammatory activity of non-psychoactive *Cannabis sativa* L.: A comparison with chemotype V. *Journal of Cannabis Research*, 7, 79. <https://doi.org/10.1186/s42238-025-00336-1>
- 11) Chan, E. C., Kuo, S.-M., Kong, A. M., Morrison, W. A., Disting, G. J., Mitchell, G. M., Lim, S. Y., & Liu, G.-S. (2016). Three-dimensional collagen scaffold

- promotes intrinsic vascularisation for tissue engineering applications. *PLoS ONE*, 11(2), e0149799. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0149799>
- 12) Cerino, P., Buonerba, C., Cannazza, G., D'Auria, J., Ottoni, E., Fulgione, A., Di Stasio, A., Pierri, B., & Gallo, A. (2021). A review of hemp as food and nutritional supplement. *Cannabis and Cannabinoid Research*, 6(1), 19–27. <https://doi.org/10.1089/can.2020.0001>
  - 13) Dolkar, R. (2022, March 31). How to quantify the % apoptosis through DAPI staining? [Online forum post]. ResearchGate. [https://www.researchgate.net/post/How\\_to\\_quantify\\_the\\_apoptosis\\_through\\_D\\_API\\_staining](https://www.researchgate.net/post/How_to_quantify_the_apoptosis_through_D_API_staining)
  - 14) Chen, S., Li, X., Wu, Q., Li, Y., Puig, M., Moulin, F., Choudhuri, S., Gingrich, J., & Guo, L. (2024). Investigation of cannabidiol-induced cytotoxicity in human hepatic cells. *Toxicology*, 506, 153884. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2024.153884>
  - 15) Citti, C., Pacchetti, B., Vandelli, M. A., Forni, F., & Cannazza, G. (2018). Analysis of cannabinoids in commercial hemp seed oil and decarboxylation kinetics studies of cannabidiolic acid (CBDA). *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 149, 532–540. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2017.11.044>
  - 16) Coronado, M., Vega y León, S., Gutiérrez, R., Vázquez, M., & Radilla, C. (2015). Antioxidantes: Perspectiva actual para la salud humana. *Revista Chilena de Nutrición*, 42(2), 206–212. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182015000200014>
  - 17) Corroon, J., & Kight, R. (2018). Regulatory status of cannabidiol in the United States: A perspective. *Cannabis and Cannabinoid Research*, 3(1), 190–194. <https://doi.org/10.1089/can.2018.0030>
  - 18) Costa, B., Trovato, A. E., Comelli, F., Giagnoni, G., & Colleoni, M. (2007). The non-psychoactive cannabis constituent cannabidiol is an orally effective therapeutic agent in rat chronic inflammatory and neuropathic pain. *European Journal of Pharmacology*, 556(1–3), 75–83. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2006.11.006>
  - 19) Crippa, J. A., Guimarães, F. S., Campos, A. C., & Zuardi, A. W. (2018). Translational investigation of the therapeutic potential of cannabidiol (CBD): Toward a new age. *Frontiers in Immunology*, 9, 2009. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02009>
  - 20) Costa, B., Trovato, A., Comelli, F., Giagnoni, G., & Colleoni, M. (2007). Cannabidiol, a non-psychoactive component of cannabis, is an orally effective therapeutic agent in chronic inflammatory and neuropathic pain in rats. *European Journal of Pharmacology*, 556(1), 75–83. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2006.11.006>
  - 21) Cui, H., Zhu, W., Huang, Y., Liu, C., Yu, Z.-X., Nowicki, M., Miao, S., Cheng, Y., Zhou, X., Lee, S.-J., Zhou, Y., Wang, S., Mohiuddin, M., Horvath, K., & Zhang, L. G. (2019). In vitro and in vivo evaluation of 3D bioprinted small-diameter

- vasculature with smooth muscle and endothelium. *Biofabrication*, 12(1), 015004. <https://doi.org/10.1088/1758-5090/ab402c>
- 22) Croghan, C. W., & Egeghy, P. P. (2003). Methods of dealing with values below the limit of detection using SAS (Report No. 08). U.S. Environmental Protection Agency.
  - 23) Dalal, J. J., Padmanabhan, T. N. C., Jain, P., Patil, S., Vasnawala, H., & Gulati, A. (2012). LIPITENSION: Interplay between dyslipidemia and hypertension. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*, 16(2), 240–245. <https://doi.org/10.4103/2230-8210.93742>
  - 24) Dawidowicz, A. L., Olszowy-Tomczyk, M., & Typek, R. (2021). CBG, CBD,  $\Delta^9$ -THC, CBN, CBGA, CBDA and  $\Delta^9$ -THCA as antioxidant agents and their intervention abilities in antioxidant action. *Fitoterapia*, 152, 104915. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2021.104915>
  - 25) Dhopeshwarkar, A., & Mackie, K. (2014). CB2 cannabinoid receptors as a therapeutic target—What does the future hold? *Molecular Pharmacology*, 86(4), 430–437. <https://doi.org/10.1124/mol.114.094649>
  - 26) Di Marzo, V., Piscitelli, F., & Mechoulam, R. (2011). Cannabinoids and endocannabinoids in metabolic disorders with focus on diabetes. In P. C. Calder, P. Yaqoob, & S. A. J. Traynor (Eds.), *Handbook of experimental pharmacology* (Vol. 203, pp. 75–104). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-17214-4\\_4](https://doi.org/10.1007/978-3-642-17214-4_4)
  - 27) Dvořáková, N., Anis, O., Poulin, P., & Koltai, H. (2020). Chronological review and rational and future prospects of cannabis-based drug development. *Molecules*, 25(20), 4821. <https://doi.org/10.3390/molecules25204821>
  - 28) Farinon, B., Molinari, R., Costantini, L., & Merendino, N. (2020). The seed of industrial hemp (*Cannabis sativa* L.): Nutritional quality and potential functionality for human health and nutrition. *Nutrients*, 12(7), 1935. <https://doi.org/10.3390/nu12071935>
  - 29) Franklin, E., & Wilcox, M. (2019, August 14). Gradient HPLC-UV method for cannabinoid profiling. *Chromatography Today*. <https://www.chromatographytoday.com/article/hplc-uhplc/31/regis-technologies-inc/gradient-hplc-uv-method-for-cannabinoid-profiling/2599>
  - 30) Froehlich, K., Haeger, J.-D., Heger, J., Pastuschek, J., Photini, S. M., Yan, Y., Lupp, A., Pfarrer, C., Mrowka, R., Schleußner, E., Markert, U. R., & Schmidt, A. (2016). Generation of multicellular breast cancer tumor spheroids: Comparison of different protocols. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 21(3–4), 89–98. <https://doi.org/10.1007/s10911-016-9359-2>
  - 31) Freedman, L. P., Gibson, M. C., Ethier, S. P., Soule, H. R., Neve, R. M., & Reid, Y. A. (2015). Reproducibility: Changing the policies and culture of cell line authentication. *Nature Methods*, 12(6), 493–497. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3403>

- 32) Gagne, S. J., Stout, J. M., Liu, E., Boubakir, Z., Clark, S. M., & Page, J. E. (2012). Identification of olivetolic acid cyclase from *Cannabis sativa* reveals a unique catalytic route to plant polyketides. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(31), 12811–12816. <https://doi.org/10.1073/pnas.1200330109>
- 33) Galettis, P., Williams, M., Gordon, R., & Martin, J. H. (2021). A simple isocratic HPLC method for the quantitation of 17 cannabinoids. *Australian Journal of Chemistry*, 74(6), 453–462. <https://doi.org/10.1071/CH20380>
- 34) Gertsch, J., Leonti, M., Raduner, S., Racz, I., Chen, J.-Z., Xie, X.-Q., Altmann, K.-H., Karsak, M., & Zimmer, A. (2008). Beta-caryophyllene is a dietary cannabinoid. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(26), 9099–9104. <https://doi.org/10.1073/pnas.0803601105>
- 35) Girgih, A. T., Alashi, A., He, R., Malomo, S., & Aluko, R. E. (2014). Preventive and treatment effects of a hemp seed (*Cannabis sativa* L.) meal protein hydrolysate against high blood pressure in spontaneously hypertensive rats. *European Journal of Nutrition*, 53(5), 1237–1246. <https://doi.org/10.1007/s00394-013-0625-4>
- 36) Gidal, B. E., Vandrey, R., Wallin, C., Callan, S., Sutton, A., Saurer, T. B., & Triemstra, J. L. (2024). Product labeling accuracy and contamination analysis of commercially available cannabidiol product samples. *Frontiers in Pharmacology*, 15, 1335441. <https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1335441>
- 37) Gul, W., Gul, S. W., Radwan, M. M., Wanas, A. S., Mehmedic, Z., Khan, I. I., Sharaf, M. H., & ElSohly, M. A. (2015). Determination of 11 cannabinoids in biomass and extracts of different varieties of *Cannabis* using high-performance liquid chromatography. *Journal of AOAC International*, 98(6), 1523–1528. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.15-095>
- 38) Hazekamp, A., Simons, R., Peltenburg-Looman, A., Sengers, M., van Zweden, R., & Verpoorte, R. (2004). Preparative isolation of cannabinoids from *Cannabis sativa* by centrifugal partition chromatography. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 27(15), 2421–2439. <https://doi.org/10.1081/JLC-200028170>
- 39) Herbert, S. P., & Stainier, D. Y. R. (2011). Molecular control of endothelial cell behaviour during blood vessel morphogenesis. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 12(9), 551–564. <https://doi.org/10.1038/nrm3176>
- 40) Ho, W. S. V., & Kelly, M. E. M. (2017). Cannabinoids in the cardiovascular system. *Advances in Pharmacology*, 80, 329–366. <https://doi.org/10.1016/bs.apha.2017.05.002>
- 41) Howlett, A. C., & Abood, M. E. (2017). CB1 and CB2 receptor pharmacology. *Advances in Pharmacology*, 80, 169–206. <https://doi.org/10.1016/bs.apha.2017.03.007>

- 42) International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use. (2022). ICH harmonised guideline M10: Bioanalytical method validation and study sample analysis. <https://www.ich.org/page/multidisciplinary-guidelines>
- 43) International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use. (2023). ICH harmonised guideline Q2(R2): Validation of analytical procedures. <https://www.ich.org/page/quality-guidelines>
- 44) International Organization for Standardization. (2009). ISO 10993-5:2009: Biological evaluation of medical devices—Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity. ISO.
- 45) International Committee of Medical Journal Editors. (2024). Recommendations for the conduct, reporting, editing, and publication of scholarly work in medical journals. <https://www.icmje.org/recommendations/>
- 46) Jadoon, K. A., Tan, G. D., & O'Sullivan, S. E. (2017). A single dose of cannabidiol reduces blood pressure in healthy volunteers in a randomized crossover study. *JCI Insight*, 2(12), e93760. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.93760>
- 47) Jimsheena, V. K., & Gowda, L. R. (2010). Arachin derived peptides as selective angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitors: Structure–activity relationship. *Peptides*, 31(6), 1165–1176. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2010.02.022>
- 48) Jones, R. T. (2002). Cardiovascular system effects of marijuana. *Journal of Clinical Pharmacology*, 42(S1), 58S–63S. <https://doi.org/10.1002/j.1552-4604.2002.tb06004.x>
- 49) Rucker, A. J., & Crowley, S. D. (2017). The role of macrophages in hypertension and its complications. *Pflügers Archiv—European Journal of Physiology*, 469(3–4), 419–430. <https://doi.org/10.1007/s00424-017-1953-x>
- 50) Kapalczyńska, M., Kolenda, T., Przybyła, W., Zajączkowska, M., Teresiak, A., Filas, V., Ibbs, M., Bliźniak, R., Łuczak, M., Lamperska, K. (2018). 2D and 3D cell cultures—A comparison of different types of cell cultures. *Archives of Medical Science*, 14(4), 910–919. <https://doi.org/10.5114/aoms.2018.76843>
- 51) Kicman, A., & Toczek, M. (2021). The effects of cannabidiol, a non-intoxicating compound of cannabis, on the cardiovascular system in health and disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(11), 5655. <https://doi.org/10.3390/ijms22115655>
- 52) Kim, S. J., Kim, E. M., Yamamoto, M., Park, H., & Shin, H. (2020). Engineering multicellular spheroids for tissue engineering and regenerative medicine. *Advanced Healthcare Materials*, 9(1), 1901289. <https://doi.org/10.1002/adhm.201901289>
- 53) Kis, B., Chen, J., Buda, V., Avram, S., Rusu, A., Hancu, G., Ștefănescu, R., Tanase, C., & Bojiță, M. (2019). Cannabidiol—from plant to human body: A promising bioactive molecule with multi-target effects in cancer. *International*

- Journal of Molecular Sciences, 20(23), 5905.  
<https://doi.org/10.3390/ijms20235905>
- 54) Klumpers, L. E., & Thacker, D. L. (2019). A brief background on cannabis: From plant to medical indications. *Journal of AOAC International*, 102(2), 412–420.  
<https://doi.org/10.5740/jaoacint.18-0217>
  - 55) Kocis, P. T., & Vrana, K. E. (2020). Delta-9-tetrahydrocannabinol and cannabidiol drug-drug interactions. *Medical Cannabis and Cannabinoids*, 3(1), 61–73.  
<https://doi.org/10.1159/000507998>
  - 56) Lazarjani, M. P., Torres, S., Hooker, T., Fowlie, C., Young, O., & Seyfoddin, A. (2020). Methods for quantification of cannabinoids: A narrative review. *Journal of Cannabis Research*, 2, 35. <https://doi.org/10.1186/s42238-020-00027-9>
  - 57) Lazic, S. E. (2010). The problem of pseudoreplication in neuroscientific studies: Is it affecting your analysis? *BMC Neuroscience*, 11, 5.  
<https://doi.org/10.1186/1471-2202-11-5>
  - 58) Lazic, S. E., Clarke-Williams, C. J., & Munafò, M. R. (2018). What exactly is ‘N’ in cell culture and animal experiments? *PLoS Biology*, 16(4), e2005282.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2005282>
  - 59) Leghissa, A., Hildenbrand, Z. L., & Schug, K. A. (2018). A review of methods for the chemical characterization of cannabis natural products. *Journal of Separation Science*, 41(1), 398–415. <https://doi.org/10.1002/jssc.201701003>
  - 60) Lena, S. (2020). Cannabinoid-sensitive receptors in cardiac physiology and ischaemia. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)—Molecular Cell Research*, 1867(11), 118052. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2019.03.009>
  - 61) Malinowska, B., Toczek, M., Pędzińska, A., & Schlicker, E. (2019). Cannabinoids in arterial, pulmonary and portal hypertension: Mechanisms of action and potential therapeutic significance. *British Journal of Pharmacology*, 176(10), 1395–1411. <https://doi.org/10.1111/bph.14488>
  - 62) Malomo, S., Onuh, O., Girgih, A., & Aluko, R. (2015). Structural and antihypertensive properties of enzymatic hemp seed protein hydrolysates. *Nutrients*, 7(9), 7616–7632. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2006.11.006>
  - 63) Mandrioli, M., Tura, M., Scotti, S., & Gallina Toschi, T. (2019). Fast detection of 10 cannabinoids by RP-HPLC-UV method in *Cannabis sativa* L. *Molecules*, 24(11), 2113. <https://doi.org/10.3390/molecules24112113>
  - 64) Martínez, V., Iriondo De-Hond, A., Borrelli, F., Capasso, R., Del Castillo, M. D., & Abalo, R. (2020). Cannabidiol and other non-psychoactive cannabinoids for prevention and treatment of gastrointestinal disorders: Useful nutraceuticals? *International Journal of Molecular Sciences*, 21(9), 3067.  
<https://doi.org/10.3390/ijms21093067>
  - 65) McRae, G., & Melanson, J. E. (2020). Quantitative determination and validation of 17 cannabinoids in cannabis and hemp using liquid chromatography-tandem

- mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 412(27), 7381–7393. <https://doi.org/10.1007/s00216-020-02862-8>
- 66) Meepun, N., Sommart, U., & Bualuang, O. (2025). Green solvent-based extraction of *Cannabis sativa* L. by-products: Enhancing antioxidant potential and cannabinoid enrichment using MCT oil. *Journal of Cannabis Research*, 7, 50. <https://doi.org/10.1186/s42238-025-00309-4>
  - 67) Meng, Q., Buchanan, B., Zuccolo, J., Poulin, M. M., Gabriele, J., & Baranowski, D. C. (2018). Reliable LC-MS/MS method for simultaneous quantification of cannabinoids in consumer products. *Analytical Methods*, 10(5), 1–16. [https://doi.org/10.1371/journal.pone.0196396?urlappend=%3Futm\\_source%3Dresearchgate.net%26utm\\_medium%3Darticle](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0196396?urlappend=%3Futm_source%3Dresearchgate.net%26utm_medium%3Darticle)
  - 68) Min, S. K., Oh, J., & Park, J. B. (2020). The effects of *Morinda citrifolia* (noni) on the cellular viability and osteogenesis of stem cell spheroids. *Medicina*, 56(8), 389. <https://doi.org/10.3390/medicina56080389>
  - 69) Montes-de-Oca-Saucedo, C. R., Perales-Martínez, J. E., Arellano-Barrientos, J. C., Rodríguez-Tovar, L. E., Nevárez-Garza, A. M., Garza-Arredondo, A. J., Saucedo-Cárdenas, O., Hernández-Vidal, G., Soto-Domínguez, A., & Castillo-Velázquez, U. (2025). Targeting human cancer cells with cannabidiol (CBD): Apoptotic cytotoxicity in HeLa, MDA-MB-231, and CaCo-2 lines. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(24), 12136. <https://doi.org/10.3390/ijms262412136>
  - 70) Moore, T. H., Zammit, S., Lingford-Hughes, A., Barnes, T. R. E., Jones, P. B., Burke, M., & Lewis, G. (2007). Cannabis use and risk of psychotic or affective mental health outcomes: A systematic review. *The Lancet*, 370(9584), 319–328. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)61162-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)61162-3)
  - 71) Namdar, D., Mazuz, M., Ion, A., & Koltai, H. (2018). Variation in the compositions of cannabinoid and terpenoids in *Cannabis sativa* derived from inflorescence position along the stem and extraction methods. *Industrial Crops and Products*, 113, 376–382. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.01.060>
  - 72) Namdar, D., et al. (2019). LED lighting affects the composition and biological activity of secondary metabolites in *Cannabis sativa*. *Industrial Crops and Products*, 132, 177–185. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.02.016>
  - 73) Nath, S. C., Horie, M., Nagamori, E., & Kino-Oka, M. (2017). Size- and time-dependent growth properties of human induced pluripotent stem cells in the culture of single aggregate. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 124(4), 469–475. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2017.05.006>
  - 74) Organización Mundial de la Salud. (2018). Prevención y control de las enfermedades cardiovasculares.
  - 75) O'Sullivan, S. E. (2015). Endocannabinoids and the cardiovascular system in health and disease. En *Handbook of experimental pharmacology* (Vol. 231, pp. 393–422). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-20825-1\\_14](https://doi.org/10.1007/978-3-319-20825-1_14)

- 76)Pacher, P., Bátkai, S., & Kunos, G. (2005). Blood pressure regulation by endocannabinoids and their receptors. *Neuropharmacology*, 48(8), 1130–1138. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2004.12.005>
- 77)Page, R. L., Allen, L. A., Kloner, R. A., Carriker, C. R., Martel, C., Morris, A. A., Piano, M. R., Rana, J. S., Saucedo, J. F., & American Heart Association Clinical Pharmacology Committee and Heart Failure and Transplantation Committee of the Council on Clinical Cardiology; Council on Basic Cardiovascular Sciences; Council on Cardiovascular and Stroke Nursing; Council on Epidemiology and Prevention; Council on Lifestyle and Cardiometabolic Health; Council on Quality of Care and Outcomes Research. (2020). Medical marijuana, recreational cannabis, and cardiovascular health: A scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*, 142(10), e131–e152. <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000883>
- 78)Patrician, A., Versic-Bratincevic, M., Mijacika, T., Banic, I., Marendic, M., Sutlović, D., Đujić, Ž., & Ainslie, P. N. (2019). Examination of a new delivery approach for oral cannabidiol in healthy subjects: A randomized, double-blinded, placebo-controlled pharmacokinetics study. *Advances in Therapy*, 36(11), 3196–3210. <https://doi.org/10.1007/s12325-019-01074-6>
- 79)Percie du Sert, N., Hurst, V., Ahluwalia, A., Alam, S., Avey, M. T., Baker, M., Browne, W. J., Clark, A., Cuthill, I. C., Dirnagl, U., Emerson, M., Garner, P., Holgate, S. T., Howells, D. W., Karp, N. A., Lazic, S. E., Lidster, K., MacCallum, C. J., Macleod, M., Pearl, E. J., Petersen, O. H., Rawle, F., Reynolds, P., Rooney, K., Sena, E. S., Silberberg, S. D., Steckler, T., & Würbel, H. (2020). The ARRIVE guidelines 2.0: Updated guidelines for reporting animal research. *PLoS Biology*, 18(7), e3000410. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000410>
- 80)Potukuchi, A., Addepally, U., Sindhu, K., & Manchala, R. (2018). Increased total DNA damage and oxidative stress in brain are associated with decreased longevity in high sucrose diet fed WNIN/Gr-Ob obese rats. *Nutritional Neuroscience*, 21(9), 648–656. <https://doi.org/10.1080/1028415X.2017.1332509>
- 81)Pourseyed Lazarjani, M., Torres, S., Hooker, T., Fowlie, C., Young, O., & Seyfoddin, A. (2020). Methods for quantification of cannabinoids: A narrative review. *Journal of Cannabis Research*, 2, 35. <https://doi.org/10.1186/s42238-020-00040-2>
- 82)Puhl, S. L. (2020). Cannabinoid-sensitive receptors in cardiac physiology and ischaemia. *British Journal of Pharmacology*, 177(8), 1891–1904. <https://doi.org/10.1111/bph.14996>
- 83)Rajendran, P., Rengarajan, T., Thangavel, J., Nishigaki, Y., Sakthisekaran, D., Sethi, G., & Nishigaki, I. (2013). The vascular endothelium and human diseases. *International Journal of Biological Sciences*, 9(10), 1057–1069. <https://doi.org/10.7150/ijbs.7502>

- 84) Rajesh, M., Mukhopadhyay, P., Haskó, G., Liaudet, L., Mackie, K., & Pacher, P. (2007). Cannabidiol attenuates high glucose-induced endothelial cell inflammatory response and barrier disruption. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 293(1), H610–H619. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00229.2007>
- 85) Remiszewski, P., Jarocka-Karpowicz, I., Biernacki, M., Jastrząb, A., Schlicker, E., Toczek, M., Harasim-Symbor, E., Pędzińska-Betiuk, A., & Malinowska, B. (2020). Chronic cannabidiol administration fails to diminish blood pressure in rats with primary and secondary hypertension despite its effects on cardiac and plasma endocannabinoid system, oxidative stress and lipid metabolism. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(1), 129. <https://doi.org/10.3390/ijms21010129>
- 86) Ross, A. C., Caballero, B., Cousins, R. J., Tucker, K. L., & Ziegler, T. R. (Eds.). (2014). *Modern nutrition in health and disease* (11th ed.). Wolters Kluwer Health.
- 87) Romero, A. P. A., Delgado, J. C., Muñoz, S. M., Llanos, L., & Benítez, R. (2024). Actividad antioxidante de variedades de cannabis. *Ciencia en Desarrollo*, 15(1), 178–193. <https://doi.org/10.19053/01217488.v15.n1.2024.15214>
- 88) Ryu, N. E., Lee, S. H., & Park, H. (2019). Spheroid culture system methods and applications for mesenchymal stem cells. *Cells*, 8(12), 1620. <https://doi.org/10.3390/cells8121620>
- 89) Salehi, A., Puchalski, K., Shokoohinia, Y., Zolfaghari, B., & Asgary, S. (2022). Differentiating cannabis products: Drugs, food, and supplements. *Frontiers in Pharmacology*, 13, 906038. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.906038>
- 90) Sadowska, O., Baranowska-Kuczko, M., Gromotowicz-Popławska, A., Biernacki, M., Kicman, A., Malinowska, B., Kasacka, I., Krzyżewska, A., & Kozłowska, H. (2020). Cannabidiol ameliorates monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(19), 7077. <https://doi.org/10.3390/ijms21197077>
- 91) Saucedo Lara, M. G. (2022). El aceite de cannabis como alimento funcional para controlar niveles de colesterol, triglicéridos y mejorar la presión arterial en un modelo murino [Tesis de maestría, Repositorio Nacional CONACYT]. URL. <https://ninive.uaslp.mx/xmlui/bitstream/handle/i/7908/TesisM.FCQ.2022.Aceite.Sauceda>
- 92) Scalise, M., Marino, F., Salerno, L., Cianflone, E., Molinaro, C., Salerno, N., & ... (2021). From spheroids to organoids: The next generation of cardiac models. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(24), 13180. <https://doi.org/10.3390/ijms222413180>
- 93) Secretaría de Salud. (2021, 12 de enero). Reglamento de la Ley General de Salud en materia de control sanitario para la producción, investigación y uso medicinal de la cannabis y sus derivados farmacológicos. *Diario Oficial de la Federación*.

- 94) Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural. (1999). Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Diario Oficial de la Federación.
- 95) Silva-Reis, R., Silva, A. M. S., Oliveira, P. A., & Cardoso, S. M. (2023). Antitumor effects of Cannabis sativa bioactive compounds. *Biomolecules*, 13(5), 764. <https://doi.org/10.3390/biom13050764>
- 96) Simej, J. L. Q., Souza, J. D. R., Lisboa, J. R., Campos, A. C., Guimarães, F. S., Zuardi, A., & Crippa, J. A. S. (2024). Does the “entourage effect” in cannabinoids exist? A narrative scoping review. *Cannabis and Cannabinoid Research*, 9(5), 1202–1216. <https://doi.org/10.1089/can.2023.0052>
- 97) Spindle, T. R., Sholler, D. J., Cone, E. J., Murphy, T. P., ElSohly, M., Winecker, R. E., Flegel, R., Bonn-Miller, M. O., & Vandrey, R. (2022). Cannabinoid content and label accuracy of hemp-derived topical products. *JAMA Network Open*, 5(7), e2223611. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2022.23611>
- 98) Stanley, C. P., Hind, W. H., & O’Sullivan, S. E. (2013). Is the cardiovascular system a therapeutic target for cannabidiol? *British Journal of Clinical Pharmacology*, 75(2), 313–322. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2125.2012.04351.x>
- 99) Stanley, C. P., Hind, W. H., Tufarelli, C., & O’Sullivan, S. E. (2015). Cannabidiol causes vasorelaxation. *Cardiovascular Research*, 107(4), 568–578. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvv087>
- 100) Soca, P., & Sarmiento, Y. (2012). Hipertensión arterial, un enemigo peligroso. *ACIMED*, 20(3), 90–95.
- 101) Stasiłowicz-Krzemień, A., Sip, S., Szulc, P., & Cielecka-Piontek, J. (2023). Antioxidant activity of cannabis extracts. *Antioxidants*, 12(7), 1390. <https://doi.org/10.3390/antiox12071390>
- 102) Szőke, K., Kajtár, R., Gyöngyösi, A., et al. (2023). Pharmacological evaluation of cannabidiol derivatives. *Antioxidants*, 12(9), 1714. <https://doi.org/10.3390/antiox12091714>
- 103) Toczek, M., & Malinowska, B. (2018). Enhanced endocannabinoid tone as a pharmacotherapy target. *Life Sciences*, 204, 4–5. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2018.05.012>
- 104) Torres, M. (2022). *Optimización de un cultivo celular tridimensional* [Tesis de maestría]. Universidad Nacional de Colombia.
- 105) Tykocki, N. R., Boerman, E. M., & Jackson, W. F. (2017). Smooth muscle ion channels and vascular tone regulation. *Comprehensive Physiology*, 7(2), 485–514. <https://doi.org/10.1002/cphy.c160019>

- 106) Urzì, O., et al. (2023). Three-dimensional cell culture models: Advantages and applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(15), 12046. <https://doi.org/10.3390/ijms241512046>
- 107) U.S. Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research. (2018). *Bioanalytical method validation: Guidance for industry*. U.S. Department of Health and Human Services.
- 108) VanDolah, H. J., Bauer, B. A., & Mauck, K. F. (2019). Clinicians' guide to cannabidiol and hemp oils. *Mayo Clinic Proceedings*, 94(9), 1840–1851. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2019.01.003>
- 109) Veilleux, A., Di Marzo, V., & Silvestri, C. (2019). Endocannabinoid system as a target for diabetes treatment. *Current Diabetes Reports*, 19(7), 1–12. <https://doi.org/10.1007/s11892-019-1178-0>
- 110) Versic-Bratincevic, M., Patrician, A., Mijacika, T., Banic, I., Marendic, M., Sutlović, D., & Dujić, Ž. (2019). Examination of a new delivery approach for oral cannabidiol in healthy subjects: A randomized, double-blind, placebo-controlled pharmacokinetics study. *Advances in Therapy*, 36(12), 3196–3210. <https://doi.org/10.1007/s12325-019-01074-6>
- 111) Walsh, S. K., Hepburn, C. Y., Kane, K. A., & Wainwright, C. L. (2010). Cannabidiol reduces cardiac arrhythmias. *British Journal of Pharmacology*, 160(5), 1234–1242. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2010.00787.x>
- 112) Wheal, A. J., Jadoon, K., Randall, M. D., & O'Sullivan, S. E. (2017). Cannabidiol improves vascular function in diabetic rats. *Frontiers in Pharmacology*, 8, 248. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00248>
- 113) Wing, S. V., & Kelly, M. (2017). Cannabinoids in the cardiovascular system. *Advances in Pharmacology*, 80, 35–39. <https://doi.org/10.1016/bs.apha.2017.05.002>
- 114) World Medical Association. (2013). *WMA Declaration of Helsinki: Ethical principles for medical research involving human subjects*. World Medical Association.
- 115) Yung, L. M., Leung, F. P., Yao, X., Chen, Z. Y., & Huang, Y. (2006). Reactive oxygen species in vascular wall. *Cardiovascular & Hematological Disorders Drug Targets*, 6(1), 1–19. <http://dx.doi.org/10.2174/187152906776092659>
- 116) Zhang, H.-Y., Gao, M., Shen, H., Bi, G.-H., Yang, H.-J., Liu, Q.-R., Wu, J., Gardner, E. L., Bonci, A., and Xi, Z.-X. (2017) *Expression of functional cannabinoid CB<sub>2</sub> receptor in VTA dopamine neurons in rats*. *Addiction Biology*, 22: 752–765. doi: 10.1111/adb.12367.

## X. RESUMEN DEL REPORTE DE SIMILITUD

### MARIANA SAUCEDA

#### “ESTUDIO COMPARATIVO DE CANNABINOIDES PARA CONSUMO HUMANO Y EL EFECTO IN VITRO DE SU ACTIVIDA...”

 Universidad Autónoma de San Luis Potosí

##### Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:old::3117:629507229

Fecha de entrega

24 sep 2026, 10:03 p.m. GMT-6

Fecha de descarga

24 sep 2026, 10:27 p.m. GMT-6

Nombre del archivo

Tesis\_Mariana Saucedo\_PCFB\_Para análisis de similitud.docx

Tamaño del archivo

11.0 MB

105 páginas

18.780 palabras

102.808 caracteres

### 9% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

##### Filtrado desde el informe

- Bibliografía
- Texto citado
- Coincidencias menores (menos de 14 palabras)
- Methods and Materials
- Trabajos entregados

##### Fuentes principales

- 9%  Fuentes de Internet
- 1%  Publicaciones
- 0%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

##### Marcas de integridad

N.º de alertas de integridad para revisión

-  **Caracteres reemplazados**  
40 caracteres sospechosos en N.º de páginas  
Las letras son intercambiadas por caracteres similares de otro alfabeto.
-  **Texto oculto**  
13 caracteres sospechosos en N.º de páginas  
El texto es alterado para mezclarse con el fondo blanco del documento.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

## **XI. ANEXOS**

### **LIMITACIONES DEL ESTUDIO**

Esta sección se incorpora para reconocer, de manera transparente y consolidada, las limitaciones metodológicas, analíticas, regulatorias y estadísticas identificadas durante la revisión de este trabajo, así como el tratamiento más razonable que puede dárseles sin necesidad de repetir procedimientos experimentales ya concluidos. Ninguna de ellas invalida el valor global del estudio; delimitan, en cambio, el alcance apropiado de las conclusiones.

**1. Trazabilidad ética del material de origen animal.** Las células de endotelio de rata espontáneamente hipertensa (SHR) provienen de animales sacrificados en la Unidad de Fisiología Celular de la UNAM, institución externa a la UASLP. El protocolo no cita el número de dictamen del comité de cuidado y uso de animales de laboratorio de dicha unidad, ni declara cumplimiento con la NOM-062-ZOO-1999 ni con los principios de las 3R recogidos en las guías ARRIVE 2.0 (NOM-062-ZOO-1999). Dado que el material ya fue obtenido y no es posible repetir el procedimiento animal retroactivamente, la vía más adecuada es solicitar a la Unidad de Fisiología Celular de la UNAM una constancia por escrito del dictamen bajo el cual se generó el material celular empleado, e incorporarla como anexo de la tesis; alternatively, si el material se adquirió ya como línea celular establecida y no por sacrificio directo para este proyecto, debe aclararse así explícitamente, lo cual resolvería la observación sin necesidad de trámite adicional.

**2. Autenticación de líneas celulares y control de micoplasma.** No se reporta autenticación por perfil de repeticiones cortas en tándem (STR) ni pruebas periódicas de detección de micoplasma para las líneas HCAEC y SHR utilizadas, controles hoy considerados mínimos para la reproducibilidad de la investigación con cultivos celulares. Al no ser posible re-autenticar retroactivamente el material ya utilizado en los experimentos ya concluidos, se reconoce esta ausencia como limitación reconocida del estudio, nos

comprometemos a incorporar autenticación por STR y prueba de micoplasma como práctica estándar en los proyectos subsecuentes del grupo de investigación.

- 3. Tamaño y representatividad de la muestra de productos comerciales.** La muestra de 17 productos, obtenida por conveniencia, no permite estimar con precisión la prevalencia real de inconsistencias de etiquetado en el mercado mexicano de derivados de cannabis, y su tamaño es notablemente menor al de los estudios internacionales citados como referencia (88, 84 y 105 productos, respectivamente). Ampliar la muestra implicaría un nuevo trabajo de campo no factible en esta etapa. La opción más pertinente es delimitar explícitamente el alcance de las conclusiones del estudio como “una caracterización exploratoria del mercado local, no representativa en sentido estadístico”, evitando extrapolar los porcentajes encontrados como si describieran el mercado nacional en su conjunto, y sugiriendo expresamente, como línea de investigación futura, una encuesta de mercado con muestreo probabilístico que permita estimaciones de prevalencia con intervalos de confianza.
- 4. Ausencia de estándares de cannabinoides ácidos y su efecto en la conclusión sobre el producto #6.** El estándar de referencia certificado utilizado (Supelco, Cannabinoid Mixture (Neutrals), 8 componentes) no incluye las formas ácidas de los cannabinoides (THCA, CBDA, CBGA, CBNA), que son la especie predominante en productos no descarboxilados. Esto es particularmente relevante para el producto #6, comercializado explícitamente como “THCA 50 mg/mL”: el resultado reportado (CBD = 4.47 mg/mL; THC = 11.33 mg/mL) nunca se cuantificó el analito realmente declarado por el fabricante.
- 5. Confirmación de identidad de isómeros D8-THC/D9-THC.** El método HPLC-DAD empleado, con una corrida isocrática de 6.5 minutos y detección final a una sola longitud de onda (220 nm), no incorpora un criterio de pureza espectral de pico ni confirmación por espectrometría de masas que descarte la coelución entre D8-THC y D9-THC, isómeros de separación cromatográfica notoriamente

difícil por HPLC-UV. Por lo que la cuantificación de THC/D9-THC reportada no cuenta con confirmación por espectrometría de masas.

- 6. Cálculo de tamaño de muestra y poder estadístico.** No se presenta un cálculo de tamaño de muestra ni de poder estadístico a priori para los ensayos celulares. Dado que el experimento ya se ejecutó con el número de réplicas descrito, no es posible modificar retroactivamente el tamaño muestral. Se calcula el poder estadístico observado (post hoc) para los contrastes centrales del estudio (viabilidad celular sano vs. enfermo) y se reportará junto con el intervalo de confianza de la diferencia observada,
- 7. Extrapolación de los umbrales de ISO 10993-5.** La clasificación de citotoxicidad empleada (100-75 % no citotóxico, etc.) proviene de la norma ISO 10993-5, diseñada específicamente para dispositivos médicos y no para extractos botánicos de consumo oral o tópico. Por analogía, en la literatura de fitoquímica, dicha clasificación se adopta como marco de referencia orientativo por analogía, y no como el estándar regulatorio directamente aplicable a un producto de consumo.
- 8. Cegamiento en la cuantificación morfológica de esferoides.** Al tratarse de mediciones ya efectuadas sobre imágenes ya capturadas, se reconoce explícitamente esta limitación en el texto y se señala que las mediciones fueron realizadas por un único analista sin cegamiento formal, lo cual se recomienda subsanar en estudios futuros del grupo.
- 9. Normalización y eficiencia de amplificación en RT-qPCR.** No se reporta un gen de referencia (housekeeping) para la normalización de la expresión de CB1 y CB2, ni datos de eficiencia de amplificación por gen, ambos necesarios para una cuantificación relativa rigurosa. Si los datos crudos de amplificación (curvas de Ct/Cq) se conservan, es posible, sin repetir el experimento en el laboratorio, reprocesar los resultados incorporando un gen de referencia validado retrospectivamente (si se incluyó alguno en la corrida original, aunque no se haya reportado) y recalcular los valores de expresión relativa mediante el método  $\Delta\Delta Ct$ . Si no se incluyó ningún gen de referencia en el diseño

experimental original, debe reconocerse esta ausencia como una limitación del componente molecular del estudio, matizando la interpretación de “Delta Rn” reportada como una medida semicuantitativa y no como una cuantificación relativa normalizada en sentido estricto, y recomendando incorporar un gen de referencia (p. ej. GAPDH o  $\beta$ -actina) en estudios futuros.

**10. Interpretación de “no diferencia” en viabilidad celular.** La afirmación de que “no existe diferencia” en la viabilidad celular entre los modelos sano y enfermo, basada en la ausencia de significancia estadística, no equivale a demostrar la equivalencia biológica entre ambos modelos

**11. Vacío de estabilidad en tiempo real de las muestras comerciales.** El parámetro validado como “estabilidad a largo plazo” cubre únicamente 24 horas en refrigeración, mientras que los productos comerciales permanecieron hasta 3 meses a temperatura ambiente antes del análisis. No siendo posible retroceder en el tiempo para generar un estudio de estabilidad real en esas condiciones sobre las muestras ya analizadas, se reconoce explícitamente que la concentración reportada para cada producto corresponde a la concentración en el momento del análisis (y no necesariamente a la concentración original del producto tal como fue adquirido), lo cual es, de hecho, coherente con el objetivo del estudio de caracterizar lo que el consumidor recibe en el momento del consumo, más que con el de certificar la concentración de fabricación del producto.

## **FINANCIAMIENTO Y CONFLICTO DE INTERESES**

Este apartado se incorpora para dar cumplimiento a los requisitos de transparencia científica recomendados por el International Committee of Medical Journal Editors. (ICMJE, 2024)

Agradecemos el apoyo financiero del Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (SECIHTI), bajo la subvención número 840192.

Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés comercial, financiero o personal con los fabricantes de los productos comerciales analizados en este estudio (incluidos, entre otros, Cannani, CBD Life, Paradise y Saniye).

## **ASPECTOS ÉTICOS Y DE BIOSEGURIDAD**

Este proyecto no involucra el trabajo con animales ni humanos por lo que no representa riesgo para la salud.

### **- NORMAS INTERNACIONALES**

De acuerdo con los principios establecidos en las Guías de la Buena Práctica Clínica de la Conferencia Internacional de Armonización y en la Resolución 008430 de octubre 4 de 1993: y debido a que esta investigación se consideró como investigación sin riesgo de acuerdo al Artículo 10 de la Resolución 008430/93, este estudio se desarrollará conforme a los siguientes criterios:

- El ensayo se realizará cumpliendo el protocolo que ha recibido previamente la aprobación o la opinión favorable del comité de revisión institucional.
- Los ensayos son sólidos desde el punto de vista científico y están descritos en un protocolo de forma clara y detallada.
- En virtud de la educación, la formación y la experiencia, los profesionales estarán calificados para realizar su cometido en lo que respecta al ensayo.
- El registro, la gestión y el almacenamiento de toda la información del ensayo clínico serán adecuados para que la notificación, la interpretación y la verificación del ensayo sean precisas.

- Los productos experimentales se fabricarán, manejarán y almacenarán conforme a las buenas prácticas de fabricación (BPF) aplicables, y se utilizarán conforme al protocolo aprobado.
- Los procesos experimentales de esta investigación, han sido realizados y comprobados previamente en otros estudios con la misma finalidad.
- El conocimiento que se pretende producir, será obtenido por medio del análisis de muestras de extractos de fuentes de alimentos, los resultados serán procesados estadísticamente.
- Este protocolo de investigación no presenta ningún tipo de riesgo, pues no se trabaja directamente con animales o bien con personas, toda la metodología es de tipo experimental y los procedimientos son *in vitro*.

#### - NORMAS NACIONALES

Los residuos químicos generados durante este proyecto se manejarán en apego a los lineamientos de la NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico-infecciosos - Clasificación y especificaciones de manejo. Los residuos se clasificarán de acuerdo a los apartados 6 y 7 en cuanto a su peligrosidad especificados en la NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-052-SEMARNAT-2005, que establece las características, el procedimiento de identificación, clasificación y los listados de los residuos peligrosos. Los procedimientos del trabajo experimental se apegarán a lo estipulado por la NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-005-STPS-1998, Relativa a las condiciones de seguridad e higiene en los centros de trabajo para el manejo, transporte y almacenamiento de sustancias químicas peligrosas. Así mismo se seguirán los lineamientos establecidos en el REGLAMENTO de la Ley General de Salud en Materia de Control Sanitario para la Producción, Investigación y Uso Medicinal de *Cannabis* y sus Derivados Farmacológicos.

#### - BENEFICIOS DE LA INVESTIGACIÓN

Este protocolo de investigación, pretende obtener un análisis y control de calidad de productos finales derivados de cannabis para consumo humano, específicamente

aceites, que contenga cannabinoides, reportando los resultados en un adecuado etiquetado, con información verídica para su consumo. La importancia de ello, radica en su efecto farmacológico *in vitro* en diferentes patologías, en particular en esta investigación de tipo cardiovascular (hipertensión arterial), siendo posible identificar bajo qué condiciones se tiene resultados positivos de mayor impacto, sin manifestar un efecto nocivo a la salud, Los resultados de este estudio, impactan en la autoadministración generalizada sin supervisión médica y amplia disponibilidad como suplemento alimenticio, así como su uso en patologías de tipo cardiovascular.

CARTA DE APROBACIÓN POR LA COMISIÓN FEDERAL PARA LA  
PROTECCIÓN CONTRA RIESGOS SANITARIO



**SALUD**  
SECRETARÍA DE SALUD



**COFEPRIS**  
COMISIÓN FEDERAL PARA LA PROTECCIÓN  
CONTRA RIESGOS SANITARIOS

Ciudad de México, 1º de junio de 2021

**Dra. Luz Eugenia Alcántara Quintana**

**CIACYT, UASLP**

**Investigador Principal**

**Unidad de Innovación y Diagnóstico en Biología celular y Molecular**

**PRESENTE:**

Con base a su solicitud con fecha de Julio del año 2020, y después de aprobarse el REGLAMENTO DE LA LEY GENERAL DE SALUD EN MATERIA DE CONTROL SANITARIO PARA LA PRODUCCIÓN, INVESTIGACIÓN Y USO MEDICINAL DE LA CANNABIS Y SUS DERIVADOS FARMACOLÓGICOS, en el año 2021, se le informa que después de evaluar su protocolo "Análisis de productos y metabolitos de Cannabis como producto natural para su uso en enfermedades crónico degenerativas". Este último se encuentra aprobado. Con el número de registro T89-21-07-UID y su duración es TRIANUAL.

Sírvase, reportar a esta unidad, el avance de el proyecto y se anexa las obligaciones y compromisos que debe cumplir anualmente.

Sin más por el momento, le enviamos un cordial saludo

COMISION DE AUTORIZACION SANITARIA

ENCARGADO DEL DESPACHO

Lic. José Luis Berúmen Jimenez

## PARÁMETROS DE APTITUD DEL SISTEMA

A partir de los cromatogramas correspondientes a la curva de calibración, se calcularon los parámetros de resolución y eficiencia cromatográfica. Los valores de resolución entre los cannabinoides fueron superiores a 1.5 y los valores calculados de platos teóricos fueron superiores a 2,000, lo que indica una adecuada separación y eficiencia cromatográfica bajo los criterios considerados.

| Cannabinoide | tR<br>(min) | Ancho<br>del pico<br>W (min) | Resolución<br>Rs* | Platos<br>teóricos<br>N* | ¿Cumple<br>Rs ≥ 1.5? | ¿Cumple<br>N ≥ 2000? |
|--------------|-------------|------------------------------|-------------------|--------------------------|----------------------|----------------------|
| CBDV         | 2.443       | 0.0769                       | —                 | 16,148                   | —                    | Si                   |
| CBG          | 2.867       | 0.0825                       | 5.32              | 19,323                   | Si                   | Si                   |
| CBD          | 3.059       | 0.0888                       | 2.24              | 18,987                   | Si                   | Si                   |
| THCV         | 3.513       | 0.0962                       | 4.91              | 21,337                   | Si                   | Si                   |
| CBN          | 4.132       | 0.1052                       | 6.15              | 24,684                   | Si                   | Si                   |
| THC          | 5.036       | 0.1977                       | 5.97              | 10,382                   | Si                   | Si                   |
| CBC          | 5.721       | 0.1505                       | 3.93              | 23,120                   | Si                   | Si                   |

# CERTIFICADO DE ANÁLISIS CANNABINOID MIXTURE, C-219-1ML, SUPELCO



## Certified Reference Material - Certificate of Analysis Cannabinoid Mixture (Neutrals) - 8 Component

**Catalog Number:** C-219-1ML  
**Solution Lot:** FE03052602  
**Expiration Date:** July 2031  
**Solvent:** Methanol  
**Volume per Ampoule:** Not less than 1 mL  
**Storage:** Store unopened in freezer (-10 °C to -25 °C).  
**Shipping:** Ship ambient. See Stability Section.  
**Intended Use:** This Certified Reference Material is suitable for the *in vitro* identification, calibration, and quantification of the analyte(s) in analytical and R&D applications. Not suitable for human or animal consumption.  
**Instructions for Use:** Users should quantitatively transfer desired volume using established good laboratory practices to spike into matrix or to dilute to the desired concentration. Each ampoule is intended for one-time use.  
**Regulatory:** US DEA Exempt | Canadian CTK # 007-005  
**Country of Origin:** United States of America  
**Safety:** Danger. See Safety Data Sheet.

- Expiration Date has been established through real time stability studies.
- Ampoules are overfilled to ensure a minimum 1 mL volume can be transferred when using a 1 mL Class A volumetric pipette.
- For quantitative applications, the minimum sample size for intended use is 1 µL.

| Component                     | Chromatographic Purity | Concentration (µg/mL) |
|-------------------------------|------------------------|-----------------------|
| Cannabichromene (CBC)         | 99.4%                  | 500 ± 3               |
| Cannabidiol (CBD)             | 100.0%                 | 500 ± 10              |
| Cannabidivarin (CBDV)         | 99.2%                  | 500 ± 3               |
| Cannabigerol (CBG)            | 99.1%                  | 500 ± 3               |
| Cannabinol (CBN)              | 98.9%                  | 500 ± 5               |
| (-)-delta8-THC                | 99.2%                  | 500 ± 3               |
| (-)-delta9-THC                | 98.9%                  | 499 ± 3               |
| Tetrahydrocannabinarin (THCV) | 99.1%                  | 500 ± 3               |

• Uncertainty of the concentration is expressed as an expanded uncertainty in accordance with ISO 17025 and ISO 17034 at the approximate 95% confidence interval using a coverage factor of  $k = 2$  and has been calculated by statistical analysis of our production system and incorporates uncertainty of the purity factor, material density, and balance and weighing technique.  
 • This standard is prepared gravimetrically and mass results are reported on the conventional basis for weighing in air. Concentration is calculated based on: the actual measured mass; Purity Factor of the analyte(s); measured mass of the solution; and the density of the pure diluent at 20°C.  
 • Concentration is corrected for chromatographic purity, residual water, residual solvents and residual inorganics.

Certiant certifies that this standard meets the specifications stated in this certificate and warrants this product to meet the stated acceptance criteria through the expiration/retest date when stored unopened as recommended. Product should be used shortly after opening to avoid concentration changes due to evaporation. Warranty does not apply to ampoules stored after opening.

## CARTA DE ACEPTACIÓN DEL ARTICULO



REVISTA DE CIENCIAS  
FARMACÉUTICAS Y  
BIOMEDICINA



### RESUMEN DE COMENTARIOS DE LA REVISIÓN

NÚMERO DE REVISIÓN: 2ª Ronda

#### REVISOR 1

Estimados autores,

Sugiero que se indique al pie de cada una de las tablas 1-8 el significado de abreviaciones usadas para los diferentes cannabinoides usados en el análisis.

**RECOMENDACIÓN:** Publicable con modificaciones



REVISTA DE CIENCIAS  
FARMACÉUTICAS Y  
BIOMEDICINA

ARTÍCULO ORIGINAL  
PUBLICADO: 29-09-2025

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

Mariana G. Saucedo-Lara<sup>1</sup>, José T. Pérez-Urizar<sup>2</sup>, Ana P. Huerta-García<sup>3</sup>, Rogelio Flores-Ramírez<sup>4</sup>, Gamaliel Benítez-Arvizú<sup>5</sup>, Luz E. Alcántara -Quintana<sup>4\*</sup>.

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@secihtl.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