

Caracterización de perfiles químicos en *Cannabis sativa*: evaluación de un método de extracción popular para identificar quimiotipos

Jara Villamayor, J.^{1,2*} ; Acosta Fernández, A.A.^{1,2}; Ferreira, F.^{1,2}; Salinas, A.³; Vallejo, M.G.⁴ ; Arrúa, A.A.^{1,2} 

¹Universidad Nacional de Asunción (UNA). Centro Multidisciplinario de Investigaciones Tecnológicas (CEMIT). San Lorenzo, Paraguay

²Universidad Nacional de Asunción (UNA). Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (FACEN). San Lorenzo, Paraguay

³Evona Paraguay. Ciudad del Este, Alto Paraná, Paraguay

⁴Universidad Nacional de Córdoba (UNC). Facultad de Ciencias Químicas y Unidad de Tecnología Farmacéutica (UNITEFA). Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Córdoba, Argentina

*autor por correspondencia: jorgedaniel26@gmail.com

Caracterización de perfiles químicos en *Cannabis sativa*: evaluación de un método de extracción popular para identificar quimiotipos. Este estudio aborda la caracterización de los cannabinoides de distintas variedades de *Cannabis sativa* cultivadas en Paraguay, enfocándose en la determinación de la relación entre los fitocannabinoides primarios, tetrahidrocannabinol (THC) y cannabidiol (CBD). Utilizando técnicas avanzadas de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), se analizaron los extractos de *Cannabis*, identificando variaciones significativas en las concentraciones de cannabinoides que subrayan la diversidad química intrínseca entre las variedades estudiadas. Además, se evaluaron métodos de extracción caseros, empleando etanol y maceración en frío, seguidos de una evaporación del solvente a baja temperatura. Los resultados mostraron relaciones variables de CBD: THC, indicando la idoneidad de los extractos para aplicaciones terapéuticas e industriales (cáñamo o *Cannabis* no psicoactivo). La investigación se llevó a cabo teniendo en cuenta las regulaciones nacionales, garantizando la integridad y aplicabilidad de los hallazgos. Este trabajo no solo contribuye al corpus científico existente sobre el *Cannabis*, sino que también resalta la importancia de la investigación orientada a la optimización de su cultivo y utilización medicinal, alineada con los intereses nacionales expresados en el Decreto N° 3999.

Palabras clave: *Cannabis sativa*, tetrahidrocannabinol (THC), cannabidiol (CBD), cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), marcadores moleculares, quimiotipos

Characterization of chemical profiles in *Cannabis sativa*: evaluation of a popular extraction method to identify chemotypes This study addresses the characterization of cannabinoids in different *Cannabis sativa* varieties cultivated in Paraguay, focusing on determining the ratio between the primary phytocannabinoids, tetrahydrocannabinol (THC) and cannabidiol (CBD). Using advanced

Steviana, Vol. 15 (2), 2023 pp.17-27

Original recibido el 26/10/2023

Aceptado el 31/12/2023



Todo el contenido de esta revista está bajo una Licencia Creative Commons

high-performance liquid chromatography (HPLC) techniques, *Cannabis* extracts were analyzed, identifying significant variations in cannabinoid concentrations that highlight the intrinsic chemical diversity among the studied varieties. Additionally, homemade extraction methods were evaluated, using ethanol and cold maceration, followed by low-temperature solvent evaporation. The results showed variable CBD ratios, indicating the suitability of the extracts for therapeutic and industrial applications (hemp or non-psychoactive *Cannabis*). The research was conducted considering national regulations, ensuring the integrity and applicability of the findings. This work not only contributes to the existing scientific corpus on *Cannabis* but also emphasizes the importance of research aimed at optimizing its cultivation and medicinal use, aligned with national interests expressed in Decree No. 3999.

Keywords: *Cannabis sativa*, tetrahydrocannabinol (THC), cannabidiol (CBD), high-performance liquid chromatography (HPLC), molecular markers, chemotypess

INTRODUCCIÓN

Cannabis sativa L., s (Cannabaceae), ha sido utilizada por milenios con diversos fines, incluyendo aplicaciones medicinales, terapéuticas, textiles e industriales, compartiendo una notable cercanía con la planta de lúpulo (*Humulus lupulus* L.) de la misma familia (Yang *et al.*, 2013; Sytsma *et al.*, 2002). En el ámbito medicinal, se ha destacado por su potencial terapéutico y paliativo frente a diversas dolencias, tales como el dolor (Duran Delmás y Capellá Hereu, 2004), esclerosis múltiple (Fragoso *et al.*, 2020), Parkinson y enfermedades neurodegenerativas (Kindred *et al.*, 2017; Suero-García *et al.*, 2015) inflamaciones (Burststein, 2015) y ha mostrado potencial para evitar el ingreso del virus SARS-COV 2 al interior de las células (Wang *et al.*, 2020) caused by the severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2).

En el contexto de usos no medicinales, el cannabis ha sido empleado en la fabricación de telares, mallas y velas de barcos debido a la resistencia y durabilidad de la fibra de su tallo (Backes, 2019). Además, registros arqueológicos han evidenciado su domesticación (Flota Vásquez, 2021) y se ha reportado un alto contenido de nutrientes en diferentes partes de la planta (Tetrycz *et al.*, 2021; Klir *et al.*, 2019), respaldando su uso como suplemento alimenticio.

Cannabis sativa es conocido por diversos

nombres, como “marihuana”, “cáñamo” y “cannabis medicinal”, cada uno designando el uso específico que se le da a una misma planta (Díaz Rojo, 2004). Los usos dependen de la concentración de uno u otro metabolito secundario producido por la planta. Los metabolitos secundarios más conocidos y estudiados son el Δ -9-tetrahydrocannabinol (THC), que le confiere sus propiedades psicoactivas (Casajuana Kögel *et al.*, 2016), y el cannabidiol (CBD), conocido como el componente no psicoactivo y permitido para su uso terapéutico, medicinal, alimenticio e industrial (Backes, 2019; Burststein, 2015).

Desde una perspectiva de su estructura molecular, tanto el cannabidiol (CBD) como el delta-9-tetrahydrocannabinol (THC) comparten la misma fórmula molecular: $C_{21}H_{30}O_2$. Sin embargo, su diferencia radica en la disposición de estos átomos en las moléculas (Figura 1). En el caso del CBD, presenta un anillo bencénico con dos grupos hidroxilos (-OH) en posición meta, mientras que el THC exhibe un anillo cíclico oxánico y un solo grupo hidroxilo. Esta diferencia desempeña un papel fundamental en la interacción de ambos compuestos con los receptores cannabinoides, lo que, a su vez, da lugar a efectos distintos.

En Paraguay, una considerable parte de la producción y exportación de *Cannabis* se realiza de forma clandestina, asociada al narcotráfico (Garat, 2016). El país ostenta el primer lugar en Sudamérica en términos de producción de esta

planta (Uranga, 2021). No obstante, las regulaciones han experimentado cambios desde el año 2017 (Jara Villamayor *et al.*, 2022) lo que ha habilitado la importación de semillas de variedades no psicoactivas y ha dado inicio a exportaciones legales de productos derivados del cáñamo industrial producidos localmente (IP, 2022; La Nación, 2021; Lasser, 2021). Además, se importan varios productos de cannabis medicinal con fines terapéuticos (Resolución DNVS 65, 2021; Resolución No718, 2019). Ante este panorama y considerando el potencial económico, industrial, medicinal, se abren nuevas oportunidades para investigar en temas relacionados al *Cannabis* y es imperativo generar información científica nacional que facilite la discriminación de las diferentes variedades cultivadas en el país, con distintas aplicaciones y usos finales.

Entre los usuarios que persiguen fines medicinales, existen diferentes metodologías de extracción caseras o artesanales, donde varían el solvente empleado y el método de eliminación del solvente (Bugvila, 2022), por lo que resulta de interés la determinación de los cannabinoides en ese tipo de preparados de drogas vegetales de uso corriente o popular. Dentro de estas metodologías empleadas, una con la cual se obtiene un preparado señalado como de mayor “efectividad” entre los usuarios es la que emplea etanol y maceración en frío, junto con una baja temperatura de evaporación del solvente, generalmente a temperatura

ambiente, usando ventiladores o acondicionadores de aire.

El objetivo principal de este estudio es determinar el perfil químico de los extractos etanólicos de *C. sativa* de distintas variedades cultivadas en Paraguay, con especial atención en la cuantificación y caracterización de los cannabinoides THC y CBD. Paralelamente, otro de los objetivos fue conocer la composición de preparados realizados por usuarios, de forma artesanal. Por este motivo, los estudios se llevaron a cabo utilizando métodos de preparación que imitan los procesos caseros realizados por organizaciones sociales o extracciones hechas en el hogar, con el fin de comprobar la eficacia de dichos métodos en la extracción de los citados cannabinoides para posibles usos medicinales.

Marco Legal

Todos los procedimientos experimentales descritos en este estudio se llevaron a cabo en estricta conformidad con las regulaciones nacionales e institucionales. La investigación se condujo bajo el marco de la Ley 6007 y su reglamentación correspondiente, autorizando específicamente a la Universidad Nacional de Asunción (UNA) a realizar estudios científicos y médicos con derivados de *C. sativa* (Ley N° 6007/2017). Además, este trabajo se alinea con la resolución 1043/2023 del Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG), por la cual se autorizó a ejecutar el proyecto de

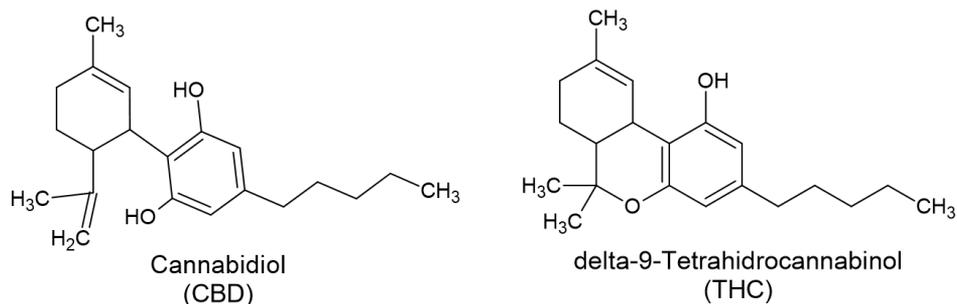


Figura 1. Estructuras del THC y CBD (Elaboración propia)

investigación.

Es importante destacar que esta investigación también se sitúa en concordancia con el Decreto N° 3999, que establece el ‘Programa Nacional para la Promoción, Fomento, Cultivo, Desarrollo de la Producción, Comercialización e Investigación del Cáñamo Industrial (Cannabis no Psicoactivo)’, declarando estos temas de interés nacional (Decreto 3999, 2020). Nuestro estudio contribuye directamente a los objetivos de este decreto, enfocándose en un área de creciente importancia y prioridad para el desarrollo científico y económico del país.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los ensayos se efectuaron en las instalaciones del laboratorio de biotecnología del Centro Multidisciplinario de Investigaciones Tecnológicas de la UNA, ubicado en el campus universitario de San Lorenzo. Este laboratorio está equipado adecuadamente y cumple con todas las medidas de seguridad y protocolos necesarios, garantizando así la integridad, calidad y confiabilidad de los resultados obtenidos.

1. Obtención de Muestras Vegetales

Las muestras vegetales de *C. sativa* utilizadas en este estudio fueron proporcionadas por la empresa Flavors del Paraguay, específicamente para su marca EVONA S.A. Se emplearon 4 muestras diferentes de inflorescencias frescas de *C. sativa*, correspondientes a cuatro variedades cultivadas en Paraguay, denominadas EV1i, EV2i, EV3i y EV7i.

2. Elaboración de Extractos Etanólicos

Para este estudio, se llevaron a cabo extracciones de las inflorescencias frescas de *cannabis* (2 g) utilizando métodos que imitan los procesos caseros o artesanales. Para ello, se aplicó la técnica de maceración en frío utilizando 27mL de etanol absoluto previamente enfriado en el congelado a -30°C, para luego verter en el mismo

recipiente de las muestras frescas sin triturar, seguida de un proceso de almacenamiento en frío en un congelador a -30°C durante 24 horas con el recipiente cubierto.

Posterior a este tiempo, se realizó un filtrado y se procedió a evaporar el etanol contenido en el extracto hasta obtener la resina. Este proceso se llevó a cabo inicialmente en una estufa a 80°C durante una hora y luego se continuó a 105°C por 30 minutos más, logrando la evaporación total de cualquier resto de agua en la resina.

3. Análisis de extractos por HPLC-UV

Las resinas obtenidas se retomaron con 25 mL de metanol grado HPLC y se sonicaron durante 5 minutos para asegurar la disolución completa. Cada una de estas soluciones, se diluyeron con metanol grado HPLC hasta una proporción 1:10. Para la identificación y cuantificación de CBD y THC en los extractos, se prepararon soluciones madre de los estándares de cada cannabinoide, proporcionados por el Centro Multidisciplinario de Investigaciones Tecnológicas (CEMIT), de concentración 1 mg/mL. Se tomaron 500 µL de cada solución madre y se agregó metanol hasta completar 2 mL de solución final. Las soluciones finales estuvieron en el rango de concentraciones de 25 ppm a 125 ppm.

Se usó el método reportado por Miltos Ugarte, R. con ligeras modificaciones (Miltos Ugarte, 2020). Tanto los extractos como las soluciones de las curvas de calibración se filtraron y analizaron mediante HPLC-UV. Se empleó un Cromatógrafo líquido (HPLC) Marca: SHIMADZU, modelo LC-20AT: Con bomba cuaternaria, detector de arreglo de diodos, detector de fluorescencia, con una columna C18 marca agilent modelo eclipse XDB-C18XXX de 5 micras de porosidad y de 4.6 mm de diámetro x 250 mm de largo. La fase móvil estuvo compuesta por una combinación de tampón fosfato y acetonitrilo (ACN), preparada bajo condiciones controladas para garantizar la precisión en la separación de compuestos. En primer lugar, se preparó la solución tampón fosfato

Tabla 1. Masas y rendimientos de resinas para los cuatro variedades de *C. sativa*

Muestra	Masa (g)	Rendimiento (%)	DER (<i>Drug Extract Ratio</i>)
EV1i	0,89	44,77	2,24:1
EV2i	1,14	57,39	1,75:1
EV3i	0,87	43,60	2,25:1
EV7i	0,58	29,34	3,44:1

(5 mM) y se ajustó el pH a 3,45 con ácido fosfórico. Posteriormente, se estableció la proporción de la fase móvil mezclando acetonitrilo con la solución tampón fosfato en una relación volumétrica de 3:1 (ACN: tampón fosfato). El volumen de inyección fue de 20 uL.

RESULTADOS

1. Rendimientos de Extractos Etanólicos

A partir de las cuatro variedades de inflorescencias codificadas como EV1i, EV2i, EV3i y EV7i, se obtuvieron extractos etanólicos (resinas) con masas y rendimientos variables, como se muestra en la Tabla 1.

2. Análisis de Extractos por HPLC-UV

Las ecuaciones derivadas de estas curvas para el THC y el CBD fueron ' $y = 5487,2x - 30069$ ' y ' $y = 5756,4x - 37509$ ', respectivamente. Estas ecuaciones demostraron una fuerte correlación lineal entre las concentraciones de los estándares y las respuestas observadas, con coeficientes de correlación (R^2) de 0,9992 para el THC y 0,9997 para el CBD.

Las proporciones de CBD: THC en las muestras variaron significativamente, siendo la variedad EV7i la que presentó la mayor diferencia en la relación CBD: THC (645:1), y EV1i la que mostró la menor (201:1) (Tabla 2).

Tabla 2. Relación entre las concentraciones de CBD y THC (CBD: THC)

Muestra	Relación CBD:THC
EV1i	201:1
EV2i	324:1
EV3i	596:1
EV7i	645:1

DISCUSIÓN

Las variedades de *C. sativa* estudiadas, codificadas como EV1i, EV2i, EV3i y EV7i, mostraron diferencias notables en los rendimientos de las resinas obtenidas, siendo EV2i la de mayor rendimiento y EV7i la de menor. En la información proporcionada por la empresa, se indicó que las semillas de las variedades provienen de Estados Unidos, por lo que pertenecen a un agroecosistema diferente.

La variabilidad en los rendimientos podría atribuirse a las diferencias genotípicas y a la respuesta de las plantas a los estímulos ambientales (Andre *et al.*, 2016), aunque los detalles específicos sobre las variedades no se pueden divulgar debido a la propiedad intelectual de la empresa proveedora. Las variedades de *Cannabis sativa* investigadas en este estudio, identificadas como EV1i, EV2i, EV3i y EV7i, exhibieron diferencias significativas en los rendimientos de resina, destacando EV2i por su superioridad en este aspecto. Estas discrepancias en los rendimientos no son ajenas al mundo del *Cannabis*, ya que estudios previos han documentado variaciones similares. Por ejemplo, una investigación subraya la

influencia de factores genéticos y ambientales en el metabolismo secundario de las plantas, lo que se refleja en la producción de cannabinoides (García-Tejero *et al.*, 2020). Este fenómeno se corrobora en nuestro estudio, sugiriendo que la genética y las condiciones de cultivo específicas de cada variedad, incluidos los factores de estrés ambiental, son determinantes cruciales en la síntesis de cannabinoides.

Nuestro análisis también se alinea con investigaciones recientes que exploran la optimización del cultivo de *Cannabis*. Un artículo describe cómo las prácticas de manejo, como la optimización del riego y la nutrición, pueden mejorar significativamente la producción de cannabinoides (Bevan *et al.*, 2021). Aunque nuestro estudio no se adentra en prácticas agronómicas específicas, los resultados sugieren que las variedades estudiadas podrían haber respondido positivamente a técnicas de cultivo optimizadas, reflejado en los rendimientos de resina observados.

Las prácticas de cultivo y manipulación de la arquitectura de las plantas de *Cannabis* también pueden influir directamente en la consistencia y estandarización de los cannabinoides. Se revela que la modulación de la arquitectura de la planta puede aumentar la estandarización del perfil de cannabinoides, aumentando la uniformidad de las concentraciones de cannabinoides en la planta, especialmente en las partes inferiores donde naturalmente son más bajas (Danziger y Bernstein, 2021). Los tratamientos que más afectaron el perfil de cannabinoides fueron aquellos que tuvieron un gran impacto en la estructura de la planta, como la eliminación de ramas primarias y secundarias (Danziger y Bernstein, 2021).

Otro estudio menciona que las respuestas dependen de la capacidad metabólica de la planta estudiada determinada por el fondo genético, dependiendo del género, especie, genotipo y cultivar investigados, factores ambientales y etapa de desarrollo (Isah, 2019). Esto no solo afecta a la producción de metabolitos de interés, sino también a otro tipo de productos como semillas

o tallos. En un proyecto (Bolaños Herrera *et al.*, 2020), se evaluaron diferentes cultivares de cáñamo industrial en dos regiones de Costa Rica. Se evaluaron variables como la cuantificación del rendimiento (fibra, grano y flor seca) e incidencia de insectos y enfermedades. Los resultados obtenidos mostraron que las condiciones climáticas afectaron el crecimiento y la producción de tallos apropiados para la obtención de fibra.

Es importante entender además las respuestas fisiológicas de la planta a diferentes condiciones de luz para maximizar la eficiencia en la producción, especialmente en entornos controlados como los interiores, donde la luz y otros factores pueden ser cuidadosamente regulados. Un estudio destaca que la respuesta de la planta al incremento de la intensidad de luz no es uniforme en todas sus características (Rodríguez-Morrison *et al.*, 2021). Por ejemplo, el rendimiento de la inflorescencia seca aumentó linealmente con la intensidad de luz creciente, mientras que la fotosíntesis a nivel de hoja se saturó a niveles mucho más bajos (Rodríguez-Morrison *et al.*, 2021). Además, la densidad de la inflorescencia apical y el índice de cosecha también aumentaron linealmente con una mayor intensidad de luz, resultando en tejidos comercializables de mayor calidad y menos tejido superfluo para desechar.

Aunque no se realizó una descarboxilación previa a la extracción, es plausible que la conversión de los ácidos THCA y CBDA haya ocurrido durante la etapa de evaporación, posiblemente influenciando las concentraciones de CBD y THC detectadas mediante HPLC-UV (Baratta *et al.*, 2019). El efecto de la temperatura en la conversión de cannabinoides se demostró en un estudio donde se empleó extracción líquida presurizada, en el cual se fijó que la temperatura a la que se empiezan a convertir las formas ácidas THCA y CBDA mediante ese método de extracción es de 80°C, ocurriendo la conversión total de CBDA a CBD a los 140°C y el pico máximo de conversión de THCA a THC a los 120°C (Olejar y Kinney, 2021). Con respecto a

la descomposición de los cannabinoides THC y CBD a otros productos como el cannabinol (CBN), podemos mencionar que la temperatura de evaporación fijada en el presente trabajo no alcanzó el mínimo ideal para la descomposición de ambos metabolitos, Este hecho quedó publicado en un estudio realizado en el año 2022 sobre el efecto de la temperatura en la degradación de los cannabinoides, en el cual demostraron que es necesario una temperatura mayor a 250°C por un tiempo superior a 30 minutos para descomponer los cannabinoides CBD y THC (García-valverde *et al.*, 2022). La descomposición del CBD en estas condiciones produciría THC y CBN como productos y la descomposición del THC en esas condiciones produciría CBN. Si bien en este estudio no se determinaron otros productos que se pudieron haber formado en el proceso de evaporación, se determinó que mediante el método aquí publicado es posible extraer el CBD, cuya importancia es fundamental para las aplicaciones terapéuticas. En un futuro ensayo se realizará la determinación correcta de los cannabinoides totales en los extractos mediante el mismo método de extracción.

La descarboxilación térmica a altas temperaturas, pero solo durante un tiempo limitado, puede maximizar la conversión de THCA en THC antes de que la concentración de THC comience a disminuir drásticamente debido a la evaporación o descomposición en otros productos como el cannabinol (CBN) y otros subproductos no identificados (Beadle, 2020). Además, los cambios en la composición relacionados con la evaporación comienzan a temperaturas tan bajas como las de secado y curado, y se vuelven extensos durante la descarboxilación, siendo la tasa relativa de evaporación de los componentes determinada por su presión de vapor relativa, y los monoterpenos se pierden primero (Eyal *et al.*, 2023).

Es importante notar que la matriz en la que se encuentran los cannabinoides puede jugar un papel crucial en la descarboxilación. En el estudio mencionado, la descarboxilación de CBDA

aislada fue menos frecuente en comparación con la descarboxilación de CBDA en el extracto de *Cannabis*, sugiriendo que los componentes de la matriz en el extracto de *Cannabis* actúan como catalizadores durante la reacción térmica (Seo *et al.*, 2022). Por lo tanto, la matriz y las condiciones de la evaporación podrían haber influenciado las concentraciones de CBD y THC detectadas en este estudio. Esto indica que también podría ser importante enfocar una investigación sobre las condiciones específicas de evaporación y la matriz de los cannabinoides y cómo afectan a la descarboxilación y, por ende, las concentraciones de estos compuestos.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

A través de una técnica de extracción relativamente sencilla, se lograron obtener resinas con rendimientos considerables en relación con la masa de inflorescencias utilizada para las muestras. Además, los resultados revelaron relaciones CBD: THC que indican la idoneidad de los extractos de estas variedades para aplicaciones terapéuticas e industriales (cáñamo o *Cannabis* no psicoactivo). Si se diera el caso de realizar extractos para aplicaciones medicinales, estas variedades podrían ser potencialmente autorizadas a futuro en el país, aunque se recomienda replicar los ensayos analíticos para corroborar estos datos.

En este estudio se utilizó un método de extracción sencillo, emulando al artesanal a partir de inflorescencias frescas de *Cannabis*, sería altamente recomendable repetir el mismo proceso de extracción para determinar la presencia y concentración de otros metabolitos de interés, como las formas ácidas THCA y CBDA, así como el producto de descomposición CBN. Este análisis podría complementarse con un estudio genético para evaluar la presencia o ausencia de enzimas sintetizadoras tanto de THC como de CBD. La correlación de los resultados obtenidos mediante ambas técnicas permitiría una determinación aún

- nal de la Plata (UNLP)]. <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/148027>
- Burstein, S. (2015). Cannabidiol (CBD) and its analogs: a review of their effects on inflammation. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 23(7), 1377–1385. <https://doi.org/10.1016/J.BMC.2015.01.059>
- Casajuana Kögel, C., López-Pelayo, H., Balcells-Olivero, M. M., Colom, J., y Gual, A. (2016). Constituyentes psicoactivos del *Cannabis* y sus implicaciones clínicas: Una revisión sistemática. *Adicciones*, 30(2), 140-151. <https://doi.org/10.20882/adicciones.858>
- Danziger, N., & Bernstein, N. (2021). Plant architecture manipulation increases cannabinoid standardization in ‘drug-type’ medical *Cannabis*. *Industrial Crops and Products*, 167(April), 113528. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113528>
- Decreto 3999, 5 (2020). <https://baselegal.com.py/docs/3691e95d-33ec-11eb-a564-525400c761ca>
- Díaz Rojo, J. A. (2004). Las denominaciones del cáñamo: un problema terminológico y lexicográfico. *Revista de Lexicografía*, 10, 65–79. <https://doi.org/10.17979/RLEX.2004.10.0.5561>
- Duran Delmás, M., & Capellá Hereu, D. (2004). Uso terapéutico de los cannabinoides. *Adicciones*, 16(2), 143–152.
- Eyal, A. M., Berneman Zeitouni, D., Tal, D., Schlesinger, D., Davidson, E. M., & Raz, N. (2023). Vapor Pressure, Vaping, and Corrections to Misconceptions Related to Medical Cannabis’ Active Pharmaceutical Ingredients’ Physical Properties and Compositions. *Cannabis and Cannabinoid Research*, 8(3), 414–425. <https://doi.org/10.1089/can.2021.0173>
- Flota Vásquez, F. (2021). Una breve historia del *Cannabis* en tres partes. *Desde el Herbario CICY*, 30, 189–194. https://www.cicy.mx/Documentos/CICY/Desde_Herbario/2021/2021-09-30-Vazquez-Flota-Una-breve-historia-del-cannabis.pdf
- Fragoso, Y. D., Carra, A., & Macias, M. A. (2020). Cannabis and multiple sclerosis. *Expert Review of Neurotherapeutics*, 20(8), 849–854. <https://doi.org/10.1080/14737175.2020.1776610>
- Garat, G. (2016). Paraguay: la tierra escondida. Examen del mayor productor de *Cannabis* de América del Sur. *Friedrich Ebert Stiftung*, 1–28. https://www.tni.org/files/publication-downloads/paraguay_fes_final.pdf
- García-Tejero, I. F., Hernández, A., Ferreira-Vera, C., Zuazo, V. H. D., García, J. H., Sánchez-Carnerero, C., & Casano, S. (2020). Yield of new hemp varieties for medical purposes under semi-arid Mediterranean environment conditions. *Comunicata Scientiae*, 11(April), 1–10. <https://doi.org/10.14295/cv11i0.3264>
- García-valverde, M. T., Callado, C. S., Díaz-liñán, M. C., Medina, V. S. De, Hidalgo-garcía, J., Nadal, X., & Hanu, L. (2022). Effect of temperature in the degradation of cannabinoids : From a brief residence in the gas chromatography inlet port to a longer period in thermal treatments. *Frontiers in Chemistry*, November, 1–11. <https://doi.org/10.3389/fchem.2022.1038729>
- IP, A. (2022, enero 11). Paraguay amplía exportación de productos derivados del cáñamo a EE.UU y Europa. *Agencia de Información Paraguaya*. <https://www.ip.gov.py/ip/paraguay-amplia-exportacion-de-productos-derivados-del-canamo-a-ee-uu-y-europa/>
- Isah, T. (2019). Stress and defense responses in plant secondary metabolites production. *Biological research*, 52(1), 39. <https://doi.org/10.1186/s40659-019-0246-3>
- Jara Villamayor, J. J., Fernández Río, D., Colmán, A. A., Moura-Mendes, J., Vallejo, M. G., & Arrua, A. A. (2022). *Cannabis* en Paraguay, presente y perspectivas. *Investigaciones y Estudios - UNA*, 2(13), 2–10. <https://doi.org/10.47133/ieuna22207b>

- Kindred, J. H., Li, K., Ketelhut, N. B., Proessl, F., Fling, B. W., Honce, J. M., Shaffer, W. R., & Rudroff, T. (2017). *Cannabis* use in people with Parkinson's disease and Multiple Sclerosis: A web-based investigation. *Complementary Therapies in Medicine*, 33, 99–104. <https://doi.org/10.1016/j.ctim.2017.07.002>
- Klir, Ž., Novoselec, J., & Antunović, Z. (2019). An overview on the use of hemp (*Cannabis sativa* L.) in animal nutrition. *Poljoprivreda*, 25(2), 52–61. <https://doi.org/10.18047/POLJO.25.2.8>
- La Nación. (2021, julio 23). Paraguay hace historia en Latinoamérica: primer país exportador de alimentos de cáñamo industrial. *La Nación, Paraguay*. <https://www.lanacion.com.py/negocios/2021/07/23/paraguay-hace-historia-en-latinoamerica-primer-pais-exportador-de-alimentos-de-canamo-industrial/>
- Lasser, I. S. (2021, julio 26). Paraguay, el primer país latinoamericano en exportar cáñamo. *Industria Cannabis*. <https://www.industria-cannabis.com.ar/es/paraguay-primer-pais-latinoamericano-exportar-canamo/>
- Ley N° 6007/2017, 5 (2017). <https://www.mspbs.gov.py/dnvs/todo-sobre-el-cannabis.html>
- Miltos Ugarte, R. D. (2020). *Métodos de análisis cualitativo y cuantitativo de aceite de cannabis medicinal en Paraguay* [Universidad Nacional de Asunción]. https://www.cnc.una.py/opac/cliente.cgi?codbiblio=BCT&orderby=&mode=full&last_mode=brief&last_limit=15&last_next_rec=1&last_cclquery=au%3D%28Miltos+and+Ugarte%2C+and+Rodrigo+and+Daniel.%29&last_codbiblio=TO-DAS&last_cant_total_reg=2&cclquery=ln%3D206471618
- Olejar, K. J., & Kinney, C. A. (2021). Evaluation of thermo-chemical conversion temperatures of cannabinoid acids in hemp (*Cannabis sativa* L.) biomass by pressurized liquid extraction. *Journal of Cannabis Research*, 3(40). <https://doi.org/https://doi.org/10.1186/s42238-021-00098-6>
- Resolución DNVS 65, (2021). <https://dinavisa.gov.py/wp-content/uploads/2023/09/Resolucion-DNVS-N-65-2021.pdf>
- Rodriguez-Morrison, V., Llewellyn, D., & Zheng, Y. (2021). *Cannabis* Yield, Potency, and Leaf Photosynthesis Respond Differently to Increasing Light Levels in an Indoor Environment. *Frontiers in Plant Science*, 12(May), 1–16. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.646020>
- Resolucion N°718, 18 (2019). <https://www.mspbs.gov.py/dependencias/dnvs/adjunto/ea0a99-RESSENAVE718.pdf>
- Seo, C., Jeong, M., Lee, S., Kim, E. J., Rho, S., Cho, M., Lee, Y. S., & Hong, J. (2022). Thermal decarboxylation of acidic cannabinoids in *Cannabis* species: identification of transformed cannabinoids by UHPLC-Q/TOF-MS. *Journal of Analytical Science and Technology*, 13(1). <https://doi.org/10.1186/s40543-022-00351-4>
- Suero-García, C., Martín-Banderas, L., & Holgado, M. Á. (2015). Efecto neuroprotector de los cannabinoides en las enfermedades neurodegenerativas. *Ars Pharmaceutica*, 56(2), 77–87. <https://doi.org/10.4321/s2340-98942015000200002>
- Sytsma, K. J., Morawetz, J., Chris Pires, J., Nepokroeff, M., Conti, E., Zjhra, M., Hall, J. C., & Chase, M. W. (2002). Urticalean rosids: Circumscription, rosid ancestry, and phylogenetics based on rbcL, trnL-F, and ndhF sequences. *American Journal of Botany*, 89(9), 1531–1546. <https://doi.org/10.3732/ajb.89.9.1531>
- Teterycz, D., Sobota, A., Przygodzka, D., & Lysakowska, P. (2021). Hemp seed (*Cannabis sativa* L.) enriched pasta: Physicochemical properties and quality evaluation. *PLoS ONE*, 16(3 March), 1–14. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0248790>
- Uranga, E. (2021). *Paraguay se mantiene como principal productor de marihuana de Sudamérica*. Global Affairs and Strategic Studies. <https://www.unav.edu/web/global-affairs/>

detalle/-/blogs/paraguay-se-mantiene-como-principal-productor-de-marihuana-de-sudamerica-3#

- Wang, B., Kovalchuk, A., Li, D., Rodriguez-Juarez, R., Ilnytsky, Y., Kovalchuk, I., Kovalchuk, O., Kovalchuk, A., Kovalchuk, I., Kovalchuk, O., Wang, B., Li, D., Rodriguez-Juarez, R., Ilnytsky, Y., Kovalchuk, I., Kovalchuk, O., & Kovalchuk, A. (2020). In search of preventive strategies: novel high-CBD *Cannabis sativa* extracts modulate ACE2 expression in COVID-19 gateway tissues. *Aging*, *12*(22), 22425–22440. <https://doi.org/10.18632/aging.202225>
- Yang, M. Q., van Velzen, R. V., Bakker, F. T., Sattarian, A., Li, D. Z., & Yi, T. S. (2013). Molecular Phylogenetics and character evolution of Cannabaceae. *Taxon*, *62*(3), 473–485. <https://doi.org/10.12705/623.9>