

## INDICE

1. ABSTRACT	pag. 2
2. INTRODUZIONE	pag. 2
3. OBIETTIVO DELLA TESI	pag. 3
4. CANNABINOIDI NATURALI, SEMI-SINTETICI E SINTETICI	pag. 3
4.1 Cannabinoidi naturali (Fitocannabinoidi)	pag. 4
4.2 Cannabinoidi semi-sintetici	pag. 5
4.3 Cannabinoidi sintetici	pag. 5
5. SISTEMA ENDOCANNABINOIDE	pag. 8
6. EFFETTI DEI CANNABINOIDI	pag. 12
6.1 Effetti dei Cannabinoidi Naturali (Fitocannabinoidi)	pag. 12
6.2 Effetti dei Cannabinoidi Sintetici	pag. 15
6.3 Effetti dei Cannabinoidi Semi-Sintetici	pag. 16
7. USO TERAPEUTICO DEI CANNABINOIDI	pag. 16
8. ASPETTI LEGISLATIVI	pag. 18
9.HHC	pag. 19
9.1 Diffusione dell'HHC	pag. 23
9.2 Sintesi dell'HHC	pag. 24
9.3 Vie di assunzione dell'HHC	pag. 26
9.4 Metodi di rilevamento dell'HHC in campioni biologici	pag. 26
10. DISCUSSIONE E CONCLUSIONI	pag. 28
BIBLIOGRAFIA	pag. 31
RINGRAZIAMENTI	pag. 43

## 1. ABSTRACT

Negli ultimi anni si è assistito ad un profondo cambiamento nel mercato della *Cannabis*: la depenalizzazione in molti Stati ed il notevole aumento della produzione di Canapa (THC < 0.3%) dopo il Farm Bill Act del 2018 negli Stati Uniti ha contribuito alla sovrapproduzione di Cannabinolo (CBD) impiegato per la realizzazione di vari prodotti come alimenti, cosmetici e commercializzato nei negozi di “*Light Cannabis*”. La capacità dei “*Drug’s Designer*” ovvero “*artigiani delle droghe*” di modificare la struttura molecolare di precursori chimici come il CBD, per renderli legalmente commerciabili ha condotto alla comparsa del primo cannabinoide semi-sintetico l’Esaidrocannabinolo (HHC).

## 2. INTRODUZIONE

La *Cannabis Sativa* è una pianta arbustiva originaria dell’Asia centrale (Cina e India) [1,2] dove i primi reperti risalgono al 500 a.C. Molto versatile e di facile coltivazione e diffusione, veniva lavorata per la produzione di tessuti e per il sartame delle imbarcazioni.

A partire dal 100 d.C. fino al 1800 è stata ampiamente utilizzata nell’industria cartaria per la stampa di libri, Bibbie, quotidiani, banconote e mappe, in quanto da 50 a 100 volte più resistente del papiro.

Dal 2700 a.C. erano note le proprietà “curative” dei prodotti della *Cannabis* in un periodo in cui condizioni come asma, cefalee, convulsioni, malaria e dolori mestruali venivano trattate sulla base di tentativi empirici, impressioni, aneddoti o scoperte casuali [1,2].

La sconosciuta complessità biochimica della *Cannabis*, a cui si aggiunge la scarsa conoscenza delle malattie e dei loro meccanismi, nonché la variabilità di effetto dell’uso di estratti non purificati, ha portato ad un progressivo declino dell’uso medicinale parallelamente all’incremento esponenziale dell’uso come sostanza psicotropa.

L’ampia disponibilità del prodotto e, di concerto, la facile modalità di assunzione tramite via inalatoria (es. tramite fumo di sigarette autoprodotte), ha fatto sì che il consumo della *Cannabis* ad uso voluttuario divenne preponderante in Europa e nel mondo.

Nel documento prodotto nel 1961 in occasione della *Single Convention on Narcotic Drugs*, la *Cannabis* venne classificata come stupefacente dall’Organizzazione delle Nazioni Unite (ONU) e definita come una “*droga che non ha alcun uso medico*”

proibendone pertanto l'uso, il possesso, la produzione, la lavorazione, la commercializzazione e l'import/export, eccetto che per usi scientifici. Nella stessa conferenza si definì una cooperazione internazionale al fine di combattere il traffico di *Cannabis* [3].

In Italia, nel 1975, è stata promulgata la Legge n. 685, che proibiva la coltivazione e l'uso della *Cannabis* rientrando la stessa, nella Tabella 1 delle sostanze stupefacenti [4].

Nonostante sia inserita fra le sostanze illegali, la *Cannabis* è una delle sostanze d'abuso maggiormente diffuse, difatti, si ritiene che l'8% degli adulti europei tra i 15-64 anni (22.6 milioni) abbiano assunto *Cannabis* almeno una volta nell'ultimo anno, anche se si evidenzia una certa eterogeneità fra i diversi stati [5].

In Italia, nel 2022, almeno il 26.5% dei giovani fra i 18-24 anni ha consumato *Cannabis* mentre nel 2023 il consumo nella stessa fascia di età è stato pari al 39% [6].

Dai dati appena citati è evidente che il consumo della *Cannabis* rappresenta tutt'ora un argomento di forte impatto sociale, determinando problematiche correlate alle dipendenze, nonché criticità legate alla legalità, ma anche etiche, morali, economiche e scientifiche.

### **3. OBIETTIVO DELLA TESI**

L'obiettivo della presente tesi è una revisione della letteratura scientifica attualmente disponibile riguardo ai Cannabinoidi ed in particolare le nuove sostanze emergenti come l'HHC, valutandone le problematiche tossicologico-forensi.

### **4. CANNABINOIDI NATURALI, SEMI-SINTETICI E SINTETICI**

Si definiscono Cannabinoidi un gruppo di sostanze chimiche e psicoattive con una caratteristica struttura terpenofenolica a 21 atomi di Carbonio. Presentano affinità con specifici recettori presenti nei mammiferi e manifestano il loro effetto per la capacità di interagire con tali recettori [7,8].

I cannabinoidi possono essere distinti in tre categorie:

- Cannabinoidi Naturali (Fitocannabinoidi)
- Cannabinoidi Semi-sintetici
- Cannabinoidi Sintetici

#### 4.1 CANNABINOIDI NATURALI (FITOCANNABINOIDI)

La pianta di *Cannabis Sativa* appare chimicamente molto complessa e degli oltre 500 costituenti, 125 sono classificati come cannabinoidi, la cui concentrazione varia ampiamente dipendentemente dal ceppo e dalle tecniche colturali [8].

Gli altri costituenti sono composti non cannabinoidi rappresentati da fenoli, flavonoidi, terpeni, responsabili della fragranza della *Cannabis Sativa*, (di questi limonene, myrcene e pinene sono i più rappresentati ed altamente volatili), acidi grassi aminoacidi, zuccheri, vitamine alcaloidi ed altri [8].

I primi ed i più importanti fitocannabinoidi sono stati scoperti a partire dai primi anni '60 da *Mechoulam et al.* [9-13], il  $\Delta^9$ -tetraidrocannabinolo ( $\Delta^9$ THC) (**Figura 1**) a cui è attribuito l'effetto psicotropo, ed il Cannabidiolo (CBD) (**Figura 2**), a cui è attribuita un'attività antinfiammatoria, antiproliferativa, antidolorifica, antiemetica, di mediatore dell'impulso nervoso nonché di possibile modulatore dell'effetto psicotropo del  $\Delta^9$ THC stesso.

Il  $\Delta^9$ THC è presente in natura sotto forma di acido tetraidrocannabinolico che, mediante decarbossilazione, dipendentemente dall'età della pianta e dalla temperatura, viene trasformato nella forma attiva  $\Delta^9$ THC [8].

Il processo di decarbossilazione interessa non solo i principali componenti ma anche i cosiddetti cannabinoidi minori quali il cannabigerolo, cannabiciclolo, cannabitriolo, cannabicromene, cannabinolo, tetraidrocannabivarina,  $\Delta^8$ -tetraidrocannabidiolo,  $\Delta^9$ -tetraidrocannabidiolo a cui si aggiunge una miscellanea di prodotti in continua crescita che confermano ulteriormente la complessità delle sostanze presenti nella *Cannabis Sativa* [7,8].

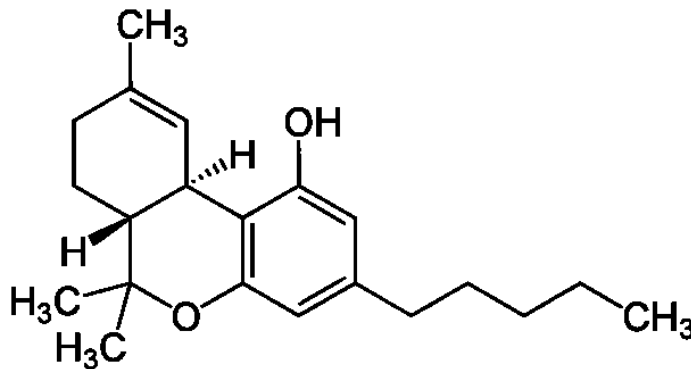
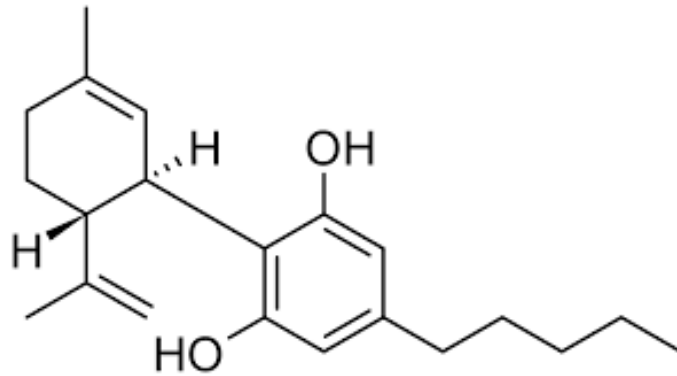


Figura 1. Struttura chimica del  $\Delta^9$ THC



**Figura 2. Struttura chimica del CBD**

#### **4.2 CANNABINOIDI SEMI-SINTETICI**

I prodotti semi-sintetici sono derivati dai Fitocannabinoidi tramite semplici passaggi chimici che ne mantengono la struttura di base ma ne modificano il profilo tossicologico e/o farmacologico [14,15].

Ad esempio, attraverso una semplice ciclizzazione del CBD, si possono ottenere derivati semisintetici (chimicamente simili al THC e con simili effetti) e commercializzati come alternativa “legale” alla Marijuana. Il primo a comparire negli Stati Uniti e successivamente in Europa è stato l’Esaidrocannabinolo (HHC) e successivamente HHC acetato (HHC-O), Esaidrocannabiforolo (HHC.P), Tetraidrocannabidiolo (H4-CBD), Tetraidrocannabiforolo (THAC- P), l’Esaidrocannabieselolo (HHC-H) [15].

#### **4.3 CANNABINOIDI SINTETICI**

I cannabinoidi sintetici sono un’eterogenea classe di molecole prodotte unicamente in laboratorio per sintesi chimica, strutturalmente non correlate ai cannabinoidi naturali.

Target di tali sostanze sono i recettori dei cannabinoidi presenti a livello cerebrale a cui si legano con elevata affinità, da 2 a 800 volte maggiore rispetto a quella del  $\Delta^9$ -THC e con effetti molto più intensi [16-18].

Prodotti già a partire dagli anni ‘60-70, nell’ipotesi di un loro uso come farmaci antidolorifici ed anestetici da impiegare nella clinica, lo scopo iniziale era di ottenere, da una parte, composti in grado di interagire con i recettori endogeni presenti nei mammiferi e nell’uomo in particolare, ma dall’altra eliminare l’effetto psicotropo e la potenziale

dipendenza. Pertanto i cannabinoidi sintetici non sono stati inizialmente prodotti per un uso illegale ed il loro studio rientrava in una legittima ricerca scientifica e medica [19]. In realtà soltanto pochissimi prodotti sintetici fra quelli testati per efficacia e sicurezza sono stati approvati dalle autorità regolatorie Food and Drug Administration (FDA) e European Medicines Agency (EMA). Tra questi, il Dronabinol (Marinol) è stato autorizzato negli Stati Uniti per il trattamento dell'anoressia nei pazienti con AIDS e nella terapia del vomito da chemioterapia. Il Marinol non è disponibile sul mercato italiano mentre negli USA è inserito in tabella III delle sostanze psicotrope a basso rischio di dipendenza.

Un altro prodotto è il Nabilone (Cesamet) approvato anche dall'EMA per il vomito da chemioterapia ma inserito nella tabella II a maggior rischio di abuso.

Il Rimonabant (Acomplia) commercializzato dal 2006 al 2009, è stato poi ritirato dall'EMA per severi effetti avversi fra cui depressione, suicidio, psicosi [18] [20,21].

Negli anni '70 *John W. Huffman* creò la più importante serie di cannabinoidi con la sigla derivata dal nome - JWK [22-25]. Negli anni successivi sono state sintetizzate molte altre sostanze quali la serie AM (Alexandros Makriyannis), i derivati indazole-carboxamide quali AB-FUBINACA [24] o la serie HU (Hebrew University) scoperta e prodotta dall'Università di Gerusalemme [17] [26-28].

Le conoscenze scaturite dalla ricerca sperimentale sono diventate ben presto appannaggio dei laboratori clandestini che iniziarono a produrre e distribuire queste molecole per un uso voluttuario.

La struttura chimica dei cannabinoidi sintetici differisce dal THC, per cui non erano considerate come sostanze illecite.

Sono attualmente classificabili in 13 tipi differenti gruppi chimici ma il mercato illegale produce continuamente nuove sostanze per cui la loro classificazione appare spesso incompleta [16].

Benzoylindole (AM-694, AM -2233, ed altri)

Naphthoylindole (JWH-018, JWH-022 ed altri)

Phenylacetylindole (JWH-167MAM-2201)

Indazolecarboxamide (ADP-PINACA ADBFUBINACA ed altri)

Cyclohexylphenyl (CP-55CP-47 ed altri)

Naphthylmethylindole (JWH-175)

Naphthylpyrrole (JWH-145, JWH-220)  
Naphthylmethylindene (JWH-176, JWH-220)  
Aminoalkylindole (Win-55 ed altri)  
Adamantoylindoles (AB-001)  
Tetramethylcyclopropylketone indole (UR-144HLR-11)  
Quinolinyl ester indole (5f-PB22)  
Dibenzopyran (HU-210, JWH-133)

La maggior parte viene definita “*Spice drugs*” a cui sono attribuiti “*nomi di strada*” quali Spice Silver, Spice Gold, Spice Diamond, e Yucatan Fire, Sence, Chill X, Smoke, Genie, Algerian Blend, Black Mamba e molti altri [16, 19, 21].

Sono spesso utilizzati come sostituto “legale” della *Cannabis* e possono eludere i controlli standard antidroga su sangue e urine.

Il basso costo e la facile reperibilità di tale sostanze, acquistabili anche online ne hanno favorito la rapida espansione. Vengono spesso commercializzate sotto forma di incensi o deodoranti per ambienti, oppure di dolci (es. caramelle gommose) con indicazione “*non destinati al consumo umano*” [29,30].

Nell’ambito dello spaccio, per incrementare le vendite, possono essere aggiunte altre sostanze che vanno dai semplici aromi, ai sali da bagno, a droghe quale anfetamina, fenciclidina, ecstasy od altre sostanze tossiche (topicidi e liquidi da imbalsamazione) [18,19,29,30].

La concentrazione del cannabinoide sintetico può variare ampiamente da prodotto a prodotto e, all’interno dello stesso prodotto, da dose a dose, potendo verificarsi sia un avvelenamento da contaminanti che overdose gravi per la loro elevata potenza rispetto alla cannabis.

I cannabinoidi sintetici sono assunti prevalentemente per via inalatoria (es. mediante fumo di sigaretta e miscelati con *Cannabis* o con tabacco) ma possono essere anche vaporizzati nelle sigarette elettroniche o, assunti come infusi, polveri o tavolette [18] [29-30].

La maggior parte dei cannabinoidi sintetici comparsi sul mercato europeo sono prodotti sotto forma di polveri sfuse in Cina o in India [29,30], mentre la successiva lavorazione avviene in Europa.

Recentemente sono state rilevate anche produzioni autoctone in nazioni europee tra le quali Olanda, Ungheria, Cipro, Romania, Grecia. In Europa, i cannabinoidi sintetici rappresentano il 25% di tutte le Nuove Sostanze Psicoattive (NPS) costituendone il gruppo più numeroso. Attualmente sono monitorate dall'European Union Drugs Agency (EUDA) 247 sostanze.

Nel periodo 2016-2020 sono state immesse sul mercato in media 10 molecole all'anno, mentre fra il 2021 e il 2022 le nuove sostanze sono state rispettivamente 15 e 22 all'anno, rivelando un fenomeno in netta crescita ed una vasta presenza in Europa [29,30].

Pertanto, la rapida evoluzione della domanda e dell'offerta favorisce prodotti sintetici come alternative "legali" mettendo a dura prova le misure di identificazione e controllo [31,32].

## 5. SISTEMA ENDOCANNABINOIDE

Le ricerche sul meccanismo d'azione dei Fitocannabinoidi hanno portato alla scoperta di un'estesa rete d'interazione tra le cellule, definita "Sistema Endocannabinoide Endogeno" (ECS). Questo complesso sistema, oltre ad avere un ruolo cardine nell'effetto dei Fitocannabinoidi, dei cannabinoidi semisintetici e sintetici, ha grande importanza in molti processi fisiologici quali: il comportamento alimentare, le risposte emozionali, le funzioni di neurogenesi, la memoria, l'attenzione, l'apprendimento, il dolore e le risposte immunitarie. (**Figura 3**)

Il sistema è composto da: **a)** molecole di segnale o ligandi, **b)** recettori dei ligandi, **c)** enzimi responsabili della loro biosintesi, trasporto e degradazione/inattivazione risultando ampiamente distribuiti nei tessuti e cellule di mammiferi.

Nel complesso, i ligandi registrano le variazioni dell'omeostasi, attivano i recettori per trasmettere segnali alle cellule stesse, permettendo loro di innescare una risposta [33-37].

**a)** I ligandi, o endocannabinoidi, sono una classe di lipidi bioattivi derivati dall'acido arachidonico di cui i più studiati sono l'Arachidonoiletanolammide (AEA o anandamide) e dal 2-arachidonoilglicerolo (2-AG), scoperti il primo da *Devane et al.* nel 1992, il secondo da *Munro et al.* nel 1995 [38-40].

Hanno in comune la capacità di legarsi ai recettori dei cannabinoidi come loro agonisti, ma interagiscono anche con altri recettori come il TRPV1 (canale ionico non selettivo), attivato dall'AEA [34].

Gli endocannabinoidi sono sintetizzati, a partire dai fosfolipidi di membrana, da diverse cellule attraverso multiple vie biosintetiche. Sono prodotti, trasportati ed inattivati nei rispettivi tessuti bersaglio e gli enzimi coinvolti sono ampiamente distribuiti nelle cellule dei mammiferi [33] [35,36].

In particolare, l'AEA viene prodotto tramite l'idrolisi enzimatica di un precursore fosfolipidico l'N-arachidonoil-fosfatidiletanolamina (NAPE), catalizzata da una fosfolipasi di tipo D.

Il 2-AG può essere prodotto tramite diversi meccanismi ma quello maggiormente rappresentato ha inizio dal precursore fosfatidilinositolo 4,5-bisfosfato (PIP2), che viene idrolizzato da una fosfolipasi di tipo C in diacil-glicerolo (DAG). Su questo agisce la diacilglicerolo lipasi a formare 2-AG.

Una volta sintetizzati gli endocannabinoidi vengono rilasciati dalla cellula con meccanismi non chiari (sono ipotizzati sia semplice diffusione per gradiente che endocitosi o tramite trasportatori) e si legano ai recettori cannabinoidi presenti sulle cellule limitrofe o sulla stessa cellula che li ha prodotti, comportandosi come mediatori autocrini o paracrini.

Una volta che gli endocannabinoidi hanno svolto la loro funzione biologica vengono degradati con meccanismi multipli regolati enzimaticamente con l'intervento di lipasi, lipossigenasi, cicloossigenasi-2 [34].

Questo meccanismo non è operativo in condizioni fisiologiche ma si attiva (on demand) in condizioni di stress o di alterazione dell'omeostasi in specifiche aree e/o organi.

Nei neuroni ad esempio, il processo di biosintesi è attivato dalla depolarizzazione delle membrane cellulari. Pertanto il sistema endocannabinoide è un fondamentale regolatore della trasmissione sinaptica nel sistema nervoso centrale (SNC) [39] [41].

Nel SNC la concentrazione di 2-AG è cento volte maggiore rispetto a AEA e ciò rende il 2-AG il principale ligando endogeno dei recettori, mentre AEA ha un ruolo diverso nella trasmissione sinaptica. In particolare attraverso l'attivazione di TRPV1 (canale ionico appartenente ad una superfamiglia di recettori a potenziale transiente, ampiamente espresso a livello delle fibre sensoriali di piccolo diametro ma presente anche a livello del sistema nervoso centrale e di membrane fisiologiche di molti tessuti), inibisce i canali del calcio e regola con feed-back negativo la biosintesi di 2-AG. L'effetto è una

modulazione della trasmissione sinaptica agendo da protezione contro l'eccessiva attività presinaptica [34].

**b)** L'altro componente fondamentale del sistema endocannabinoide è rappresentato dai recettori specifici. I due principali recettori presenti sulla superficie delle cellule (CB1 e CB2 anche noti come CB1R e CBR2), appartengono alla famiglia dei recettori legati a proteina Gi/o con 7 domini transmembrana, un gruppo finale extracellulare –NH<sub>2</sub> ed un altro carbossilico-COOH che protrude nella faccia interna della membrana cellulare [33,34].

Nell'uomo i recettori CB1 e CB2 sono codificati da geni non correlati (6q14-q15 per CB1 e 1p36.11 per CB2) [34] [36-37].

I CB1 (scoperti da *Devane et al.*) [38] sono i principali recettori presenti nel SNC, prevalentemente nel bulbo olfattivo, nell'ippocampo, nei gangli della base e nel cervelletto ma si trovano anche nella corteccia cerebrale, nel setto, nell'amigdala, nell'ipotalamo e nel midollo spinale, localizzati principalmente nei neuroni presinaptici. La loro presenza è dimostrata anche a livello degli astrociti, oligodendrociti e microglia dove mediano la trasmissione sinaptica, analogamente al tessuto nervoso periferico dove regolano le sensazioni nocicettive [34].

Nel tratto gastrointestinale, attraverso attività neuronale e non neuronale, regolano la motilità intestinale, la funzione enteroendocrina, la secrezione gastrica e la permeabilità epiteliale. A livello epatico regolano la lipogenesi e l'insulino resistenza.

Nei muscoli scheletrici regolano il metabolismo energetico e la formazione delle fibre muscolari. Nel sistema cardiovascolare hanno effetto inotropo negativo e vasodilatatore. Nell'occhio regolano la pressione intraoculare.

I recettori CB1 sono inoltre coinvolti nello stress ossidativo, fibrosi, infiammazione e nella funzione riproduttiva, nonché nella modulazione del sistema immunitario e nei meccanismi di proliferazione di linee cellulari cancerose.

Di particolare interesse è la possibilità dei CB1 di interagire con altre molecole quali le  $\beta$ -arrestine, molecole chiave per la desensibilizzazione dello stesso CB1. In tal modo tramite la  $\beta$  arrestina si interviene sulla modulazione dei segnali del CB1 [42].

I recettori CB2, (scoperti da *Munro et al.*) [39], sono sovrapponibili strutturalmente ai CB1 e presentano analoga attivazione ma differiscono nella distribuzione in quanto prevalentemente presenti nei tessuti periferici e specificatamente nelle cellule del

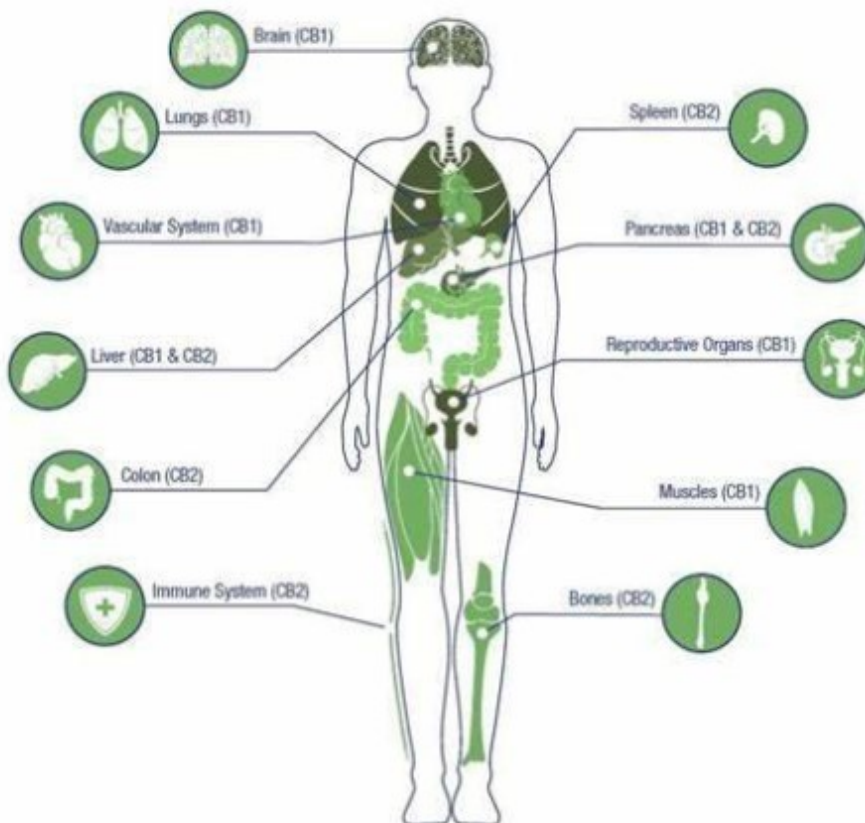
sistema immunitario quali leucociti (nelle diverse sottoclassi) ed in altri organi correlati al sistema immunitario come milza, timo, tessuto osseo emopoietico.

Sono risultati presenti anche nel fegato e nel tratto gastrointestinale con azione sulla motilità intestinale e il dolore viscerale.

A differenza dei CB1 sono scarsamente espressi nel SNC anche se ultimi studi rilevano la presenza dei CB2 oltre che nelle cellule nervose, negli astrociti, negli oligodendrociti, nella microglia e sulle strutture vascolari evidenziando un'azione oltre che sulla trasmissione dell'impulso nervoso anche nella regolazione nocicettiva e nella infiammazione [40-45].

c) Per ultimo, *Lowe et al.* nel 2021 hanno scoperto che l'intero sistema comprende cinque enzimi responsabili della sintesi e degradazione degli endocannabinoidi, quali gli isoenzimi  $\alpha$  e  $\beta$  della idrolasi delle amidi degli acidi grassi o FAAH, la lipasi del monoacilglicerolo, e le fosfolipasi D e C [36].

Nel complesso, l'attivazione dei recettori CB1 e CB2 dà luogo ad un ampio spettro di risposte a livello cellulare, con conseguenti effetti centrali e periferici ancora oggi non ben definiti nella loro interezza.



**Figura 3. Distribuzione dei recettori CB1 e CB2 nell'organismo umano.**

## **6. EFFETTI DEI CANNABINOIDI**

### **6.1 EFFETTI DEI FITOCANNABINOIDI**

I costituenti della *Cannabis Sativa* manifestano la loro attività e gli effetti farmacologici legandosi ai recettori del sistema endocannabinoide endogeno. Degli oltre 100 diversi fitocannabinoidi contenuti nella *Cannabis* i due più studiati sono il  $\Delta^9$ -tetraidrocannabinolo ( $\Delta^9$ THC) ed il cannabidiolo (CBD).

Il  $\Delta^9$ THC è un agonista parziale dei recettori CB1 presenti ad alta densità nel SNC ed a questo legame sono imputabili gli effetti della cannabis usata a scopo voluttuario.

Il CBD agisce anch'esso come agonista del sistema endocannabinoide non mostrando tuttavia effetto psicotropo a causa di una bassa affinità per i due recettori.

La sua azione avviene principalmente sul sistema immunitario ma interagisce anche modulando l'attività del CB1 [34,40,41].

Negli ultimi anni il contenuto medio del  $\Delta^9$ THC nella *Cannabis* è aumentato, dipendentemente dalla selezione delle piante e dalla coltivazione (negli anni '70 il contenuto medio di Marijuana per sigaretta era 10 mg attualmente 60-150 mg).

Gli effetti della *Cannabis* per uso voluttuario sono noti da tempo ma la farmacocinetica ed in ultima analisi, gli effetti psichici, dipendono dalla dose assunta, dalla via di somministrazione, dallo specifico cannabinoide e dalle caratteristiche del soggetto assuntore (occasionale o abituale).

La via di somministrazione determina la rapidità dell'assorbimento dei prodotti della *Cannabis* [42] [46].

In caso di inalazione il THC ha un assorbimento molto rapido ed il picco viene raggiunto in pochi secondi o minuti. La biodisponibilità media è del 2-56% e la durata dell'effetto 2-3 ore [42].

L'assunzione per via orale ha una latenza di 1-3 ore dipendentemente dal contenuto dello stomaco, biodisponibilità 4-20% e durata dell'effetto 5-8 ore.

Il THC è metabolizzato a livello epatico via CYP2C9, CYP2C19 ed altri enzimi, l'eliminazione è prevalentemente fecale con una piccola quota renale. Il legame con le proteine plasmatiche è del 97%. È substrato ed inibitore della glicoproteina P di trasporto. L'effetto acuto del THC determina cambiamenti psicologici e comportamentali rappresentati da euforia, alterata capacità di giudizio, distorsione del tempo e dello spazio, esagerate esperienze sensoriali (visione dei colori più luminosi, musica più vivida,

esagerato coinvolgimento emozionale), risate immotivate, loquacità, diminuita ansietà e stato di allerta.

Non sono rare, specialmente alle prime assunzioni, le reazioni disforiche che possono condurre a delirium, mania, paranoia, ansietà e crisi di panico.

Il rallentamento dei tempi di reazione e l'incoordinazione motoria interferiscono con la guida ed aumentano il rischio di incidenti stradali [46].

Sul sistema cardiovascolare i cannabinoidi producono effetti quali: tachicardia dose-dipendente, con aumento di frequenza improvviso dal 20 al 100% rispetto al valore di base e perdurante 2-3 ore; vasodilatazione periferica con ipotensione posturale, lipotimia o sincope; variazioni della pressione arteriosa; aritmie ed infarto miocardico.

L'uso iniziale può determinare angina e/o infarto o peggiorare pregresse coronaropatie e vasculopatie periferiche.

La *Cannabis* ha inoltre importanti ripercussioni sul sistema riproduttivo. Il THC altera il normale ciclo ovulatorio riducendo la sintesi dell'ormone follicolostimolante (FSH), luteinizzante (LH) e della prolattina (PRL) [48].

Attraversa la placenta ed altera lo sviluppo placentare, gli scambi gassosi e la crescita fetale, pertanto l'assunzione in gravidanza può determinare pre-eclampsia, aborti spontanei e parti prematuri nonché un basso peso alla nascita e ritardo di crescita.

Viene escreto con il latte inducendo effetti tossici nel neonato [49].

Sono molteplici le segnalazioni di consumo accidentale nei bambini in cui si manifestano sintomi più severi e degenze prolungate in ospedale.

La possibilità che la Marijuana illegale sia contaminata con topici, pesticidi ed altre sostanze produce effetti di sommazione tossica a volte molto complessi.

La contaminazione da *Aspergillus* può causare una aspergillosi polmonare invasiva nei soggetti immunocompromessi.

Nella valutazione degli effetti dei Fitocannabinoidi sono da considerare anche gli altri composti fra i quali il Cannabinolo (CBN), che mostra attività genericamente sedativa, e la Tetraidrocannabivarina (THCV), che ha una attività antiepilettica. Tuttavia questi dati rappresentano ad oggi un campo di studi ancora aperto [40].

Per quanto riguarda gli effetti a lungo termine, è ormai consolidato che esiste un legame tra il  $\Delta^9$ THC ed il maggiore rischio di sviluppare schizofrenia ed altre patologie mentali severe incluse psicosi in soggetti predisposti per tali malattie [50].

Pneumopatie croniche e sviluppo di dipendenza sono le conseguenze dell'assunzione protratta della cannabis.

Per definizione dopo il  $\Delta^9$ THC, il CBD è il maggior componente della cannabis su cui si sono concentrate le ricerche per un suo utilizzo terapeutico non mostrando un significativo effetto psicotropo. Assunto per inalazione l'assorbimento è rapido e si ha in 3-5 minuti con una biodisponibilità dell'11-45% [42]. Essendo molto lipofilo si distribuisce rapidamente nei tessuti adiposi ed in quelli molto vascolarizzati.

Nell'assunzione per via orale la biodisponibilità è minore rispetto alla via inalatoria (6-30%). L'effetto si manifesta dopo 2-3 ore, il tempo di dimezzamento è 18-32 ore e la durata dell'effetto 12-24 ore. Il legame alle proteine plasmatiche è del 97% (come il  $\Delta^9$ THC) [42].

È metabolizzato a livello epatico tramite il citocromo P450 (CYP) e ciò spiega l'interazione tra THC e CBD in cui la somministrazione di CBD prima del THC potenzia l'effetto del THC per interazione farmacologica (inibisce l'idrossilazione del THC) [51,52].

L'escrezione fecale è prevalente rispetto a quella urinaria (16%). Presenta una rilevante circolazione enteroepatica e ciò (insieme al lento rilascio ed alla redistribuzione dai compartimenti lipidici) è responsabile di un tempo di eliminazione piuttosto lungo (dopo un'assunzione di tipo inalatorio è di  $31 \pm 4$  ore e da 3 a 5 giorni dopo ripetute somministrazioni giornaliere nei consumatori cronici) [51].

Seppur il CBD non presenti un effetto psicotropo non è un componente inerte della cannabis. Presenta un effetto farmacologico sull'insonnia e mostra effetto ansiolitico, antipsicotico e di neuroprotezione. Questa caratteristica del CBD dovrebbe essere considerata in soggetti sani dove questi effetti ansiolitici e rilassanti possono essere pericolosi nelle attività quotidiane e nella guida [51].

In alcuni studi è emersa l'ipotesi che un consumo costante o occasionale di cannabis contenente un'alta concentrazione di CBD sia associato ad un rischio inferiore di sviluppare sintomi psicotici o alterazioni cognitive [53-57]. Ciò non ha trovato conferma nello studio di *Englund et al.* in cui la somministrazione di *Cannabis* con contenuto variabile di CBD non ha modificato l'insorgenza degli effetti psichici acuti del  $\Delta^9$ THC. Si è osservata inoltre una relazione dose-risposta tra la dose di CBD assunta e la sua

concentrazione plasmatica, senza alcun effetto sulle concentrazioni plasmatiche di  $\Delta^9$ THC [58].

Oltre a ciò l'interferenza sulla via di eliminazione di altri farmaci può portare sovra o sottodosaggi di cui è necessario valutare l'impatto clinico. È stato dimostrato un effetto sul metabolismo della nicotina in cui il CBD ed il suo metabolita attivo 7-Idrossicannabidiolo inibiscono significativamente la via metabolica della nicotina con effetto additivo aumentando l'effetto di ogni sigaretta fumata. Ciò potrebbe ridurre il numero di sigarette fumate e quindi gli effetti negativi del fumo sulla salute [59].

L'uso di CBD può indurre danni epatici, astenia, diarrea e sonnolenza.

## **6.2: EFFETTI DEI CANNABINOIDI SINTETICI**

I cannabinoidi sintetici sono consumati prevalentemente per via inalatoria con il fumo [18] ed agiscono soprattutto a livello cerebrale modulando i segnali di neurotrasmissione. A differenza del  $\Delta^9$ THC, le molecole di sintesi selettive o non selettive presentano un'affinità nettamente superiore per i recettori CB1/CB2 per cui gli effetti psichici sono molto più marcati. A livello cerebrale determinano senso di euforia, talvolta sedazione eccessiva, paranoia ed agitazione, nausea, vomito, xerostomia, sudorazione [16].

Negli ultimi anni si è assistito ad un incremento notevole di effetti avversi da consumo di cannabinoidi sintetici. Una stima effettuata in un ospedale in Alaska (Anchorage) ha evidenziato che il 34.2% delle visite effettuate in urgenza in Pronto Soccorso erano correlate all'uso di cannabinoidi sintetici. Il 68% dei soggetti osservati presentava letargia, confusione mentale, sonnolenza, scarsa risposta agli stimoli, il 32% agitazione, aggressività e violenza, a volte letargia ed agitazione associati, il 45 % tachipnea e tachicardia, il 6% sono stati sottoposti ad intubazione endotracheale ed il 10.5% ricoverati in rianimazione [60].

In letteratura sono stati inoltre descritti casi di ischemie cerebrali, infarto miocardico, grave rabdomiolisi, iperemesi persistente, tossicità renale, severa tossicità epatica [16,18,61-64].

### **6.3 EFFETTI DEI CANNABINOIDI SEMISINTETICI**

Il primo riconosciuto come cannabinoide semisintetico è l'Esaidrocannabinolo (HHC) nel maggio 2022.

I consumatori di HHC riferiscono effetti quali: sedazione e rilassamento, euforia ed episodi di psicosi, tremori incontrollati [21].

In un case report di *O' Mahony et al.* sono stati segnalati 2 casi di psicosi acuta scatenata dall'HHC. In entrambi i casi i pazienti erano consumatori abituali di *Cannabis* ma l'episodio di psicosi acuta si è verificato dopo l'inalazione di HHC tramite sigaretta elettronica [65].

Nello studio osservazionale retrospettivo di *Labadie M. et al.* sono stati segnalati 37 casi di avvelenamento da HHC caratterizzati da effetti neurologici (85%), cardiovascolari (61%), gastrointestinali (33%), psichiatrici (27%) ed oculari (21%) [66].

Nello studio di *Ferretti M.L et al.* [67], 109 individui consumatori di *Cannabis* e HHC almeno una volta in sei mesi, sono stati sottoposti ad un questionario online sull'uso dell'HHC, da cui sono emersi effetti quali rilassamento ed euforia. Inoltre, il 20% di coloro che hanno sospeso l'assunzione di HHC hanno sviluppato sintomi di astinenza come ansia, depressione, agitazione, sonnolenza, irritabilità, nausea e anoressia.

## **7. USO TERAPEUTICO DEI CANNABINOIDI**

La *Cannabis Sativa* può essere classificata in base all'intenzione d'uso come voluttuario o terapeutico [68]. Sebbene l'uso voluttuario sia più conosciuto ponendo la *Cannabis* come la pianta più commercializzata, sequestrata ed utilizzata, negli ultimi decenni è cresciuto l'interesse per l'uso terapeutico in diverse patologie in cui la terapia standard non è completamente efficace al fine di migliorare la qualità di vita dei pazienti [69].

La liberalizzazione della *Cannabis* a basso contenuto di THC (<0.2 % in Italia) con una concentrazione variabile di CBD, ha ulteriormente spinto la ricerca verso l'uso terapeutico della *Cannabis*.

Le malattie in cui si è ipotizzato un trattamento con *Cannabis* sono diverse includendo la Malattia di Alzheimer, il Morbo di Parkinson, il disturbo d'ansia, la Sclerosi Laterale Amiotrofica, le neoplasie, le malattie infiammatorie croniche intestinali (MICI), il glaucoma, l'AIDS, la Sclerosi multipla, il dolore cronico e molti altri [68].

Molte speranze terapeutiche sono decadute in quanto gli effetti rilevati negli studi preclinici *in vivo* ed *in vitro* non sono stati dimostrati nell'uomo.

In particolare nel dolore correlato a neoplasie estese non si è osservato alcun effetto clinicamente significativo, mentre nelle MICI, nella fibromialgia e nel dolore nocicettivo, le evidenze sono insufficienti per approvarne l'uso terapeutico [70,71].

Attualmente la *Cannabis* per uso terapeutico è prodotta (in accordo con le direttive della Unione Europea) dallo Stabilimento chimico Farmaceutico Militare di Firenze come sostanza attiva e definita FM2.

Viene dispensata a carico del Sistema Sanitario Nazionale (SSN) per il trattamento del dolore associato a spasticità, valutato con scala NRS ( $\geq 5$ ), nei pazienti affetti da sclerosi multipla e dolore neuropatico cronico, in caso di resistenza ai trattamenti convenzionali. Mentre viene dispensata dal SSN con piano terapeutico specialistico ma a carico del paziente per il trattamento del dolore associato a spasticità (NRS < 5) nella sclerosi multipla, del dolore neuropatico cronico e del dolore da spasticità nei pazienti affetti da lesioni del midollo spinale, in caso di resistenza alle terapie convenzionali.

In aggiunta può essere somministrata nel trattamento di nausea e vomito causati da chemioterapia, radioterapia e terapie per HIV; nel trattamento di anoressia, cachessia e perdita dell'appetito nei pazienti affetti da AIDS; nel trattamento del glaucoma resistente ad altre terapie; nel trattamento dei movimenti involontari nella sindrome di Tourette.

In altre indicazioni quali morbo di Parkinson, sindrome da stress post traumatico ed altre, le evidenze ottenute dagli studi clinici fino ad oggi condotti, non ne giustificano la somministrazione [71].

Oltre alle preparazioni galeniche di *Cannabis* è disponibile l'Epidiolex, soluzione orale di cannabidiolo, che viene associato al Clobazepam (appartenente alla classe delle Benzodiazepine) per ridurre le crisi epilettiche associate alla Sindrome di Gastaut-Lennox o alla Sindrome di Dravel (a partire dai 2 anni di età) o nelle crisi epilettiche associate a Sclerosi Tuberosa complessa.

Nella prescrizione di *Cannabis* si devono sempre valutare le interazioni con altri farmaci in quanto sono state rilevate interazioni con rifampicina, antiepilettici, antivirali e chemioterapici.

Oltre a ciò è necessario monitorare sempre gli effetti avversi [7].

Per quanto riguarda l'uso terapeutico dei Cannabinoidi semisintetici, così come per i Cannabinoidi sintetici, attualmente in Italia non ci sono indicazioni per una loro assunzione ai fini terapeutici.

## 8. ASPETTI LEGISLATIVI

Diverse norme sono state varate nel tempo per regolamentare la produzione ed il consumo di *Cannabis*, a causa degli effetti psicoattivi e della potenziale dipendenza ed abuso.

In molti Stati l'uso della *Cannabis* è regolamentato da legislazioni che vanno dalla depenalizzazione alla legalizzazione per consumo personale o all' utilizzo terapeutico.

Nel 2013 il Regolamento europeo n. 1307 ha consentito la coltivazione di Canapa con un contenuto di  $\Delta 9$ -tetraidrocannabinolo ( $\Delta 9$ -THC) < allo 0,2% (*Cannabis Light*) mentre la *Cannabis* ad alto contenuto di  $\Delta 9$ THC (>0.2%) è considerata illegale per il consumo ricreativo.

Ciò ha portato ad un aumento significativo della commercializzazione di prodotti a basso contenuto di  $\Delta 9$ -THC e concentrazione variabile di CBD, quest'ultimo non vietato da alcuna legge [72].

Nel 2018 negli Stati Uniti è stato varato il decreto legislativo "Agriculture Improvement Act", meglio conosciuto come "Farm Bill" che ha notevolmente modificato il mercato della *Cannabis* [73].

Con tale atto si effettua una netta distinzione fra "*Cannabis*" con THC > 0.3%, definita Marijuana (illegale) e "*Canapa*" con THC < 0.3% calcolato sul peso secco. In tal modo la Canapa non è sottoposta al controllo della legge federale sulle sostanze illegali analogamente ogni parte della pianta di Canapa quali estratti, cannabinoidi, isomeri acidi, sali inclusi e tutti i suoi derivati entro il limite dello 0.3% di THC su peso secco.

Ciò ha contribuito all'ulteriore espansione della produzione

Per quanto riguarda l'Italia, la *Cannabis* ad alto contenuto di  $\Delta 9$ THC > 0,2% è considerata illegale per l'uso ricreativo in base al decreto del Presidente della Repubblica del 9 ottobre 1990, n. 309., mentre il CBD viene liberamente commercializzato. Nel 2016 è stato approvato l'uso della *Cannabis* a basso contenuto (*Cannabis light*).

Successivamente, nel 2022 il Ministero della Salute ha emanato 7 decreti inserendo 43 nuove sostanze psicotrope (NPS) nella Tabella I del decreto del Presidente della Repubblica del 9 ottobre 1990, n. 309.

Nel luglio 2023 sono state inserite nella medesima Tabella, 48 NPS tra cui anche l'HHC e due suoi derivati, l'HHC-acetato (HHCO) e l'Esaidrossicannabiforolo (HHCP) [6,74]. Recentemente, alla luce dei sequestri di HHC, il CBD è stato inserito dal decreto del 27 giugno 2024 nella Tabella dei medicinali, sezione B, per cui ne sono vietati l'uso alimentare, umano e veterinario [75].

Tuttavia, nel mese di agosto 2024 il TAR del Lazio ha sospeso tale provvedimento con conseguente gap legislativo.

Anche i cannabinoidi sintetici sono annotati in Tabella I e pertanto considerati illegali.

## 9. L'ESAIDROCANNABIDILOLO (HHC)

L'Esaidrocannabinolo (HHC) è stato identificato per la prima volta negli anni '40 nei laboratori di *R. Adams* negli Stati Uniti e *A. Todd* in Inghilterra durante l'analisi della struttura chimica dei costituenti psicoattivi di Marijuana e Hashish ed, in particolare, durante lo studio della reazione di idrogenazione del THC, la struttura del CBD e dei tetraidrocannabinoli [76-78].

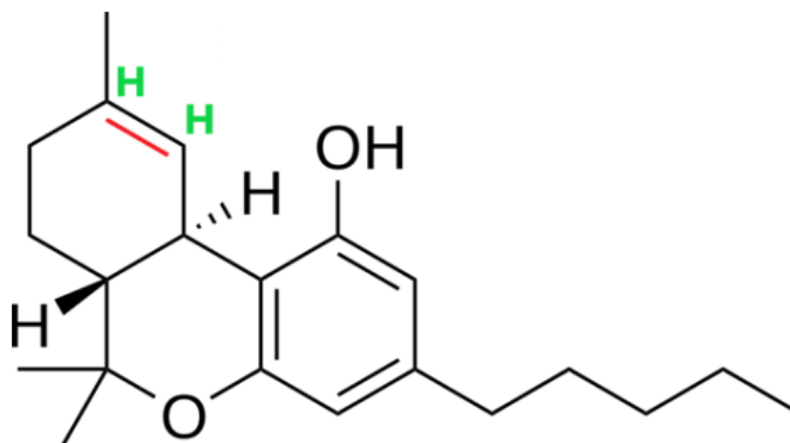
Negli anni successivi la ricerca si è focalizzata prevalentemente sull'interesse tossicologico e farmacologico del THC e del CBD che rappresentano i principali principi dei fitocannabinoidi.

L'HHC è una molecola naturalmente contenuta, seppur in minime quantità, nei pollini e nei semi della pianta. Una piccola quota si può trovare nei campioni di canapa più vecchia per degradazione fotochimica del CBD oppure quando è presente un eccesso di THC che si concentra nell'essudato resinoso della pianta. Durante la conservazione della Canapa tracce analitiche di acidi come cloroformio e acido salicilico, possono catalizzare la formazione di HHC dal  $\Delta^9$ THC [79-81].

Per la sua instabilità chimica, l'elevata lipofilia, la tendenza all'isomerizzazione, nonché la mancanza di adeguate tecniche analitiche, l'interesse per questa molecola è andato progressivamente riducendosi. Le conoscenze sull' HHC sono pertanto limitate a piccoli studi condotti su animali, mentre non sono disponibili dati sulla farmacologia e tossicologia nell'uomo [79].

Nel Settembre 2021 negli Stati Uniti l'HHC, la cui struttura molecolare è molto simile al THC (**Figura 4**) è comparso sul mercato delle sostanze psicotrope ed è stato seguito rapidamente da altre molecole a struttura molto simile quali: l'HHC acetato (HHC-O),

l'Esaidrocannabiforolo (HHC-P), Tetraidrocannabidiolo (H4-CBD), Tetraidrocannabiforolo (THC-P) ed Esaidrocannabioesolo (HHCH) [80-81].



**Figura 4. Struttura chimica dell'HHC. A differenza del Δ9THC presenta 2 atomi di Idrogeno (H) (in verde) e perdita del doppio legame C9-C10 (in rosso).**

L'HHC, essendo un principio esaidroderivato, non è contemplato dalla legislazione sulle sostanze psicotrope del 1971 e per questo motivo viene pubblicizzato e venduto come sostituto legale dei prodotti a base di THC aggirando in tal modo il vincolo legale [79-83].

La libera commercializzazione nei negozi dedicati alla “*Cannabis Light*” ma soprattutto la vendita online, ne ha favorito la rapida diffusione dell'HHC in molti stati.

La rete Internet rappresenta sempre più la nuova frontiera per il commercio non solo di HHC ma di tutte le sostanze psicotrope facilitandone nettamente l'espansione e la non tracciabilità.

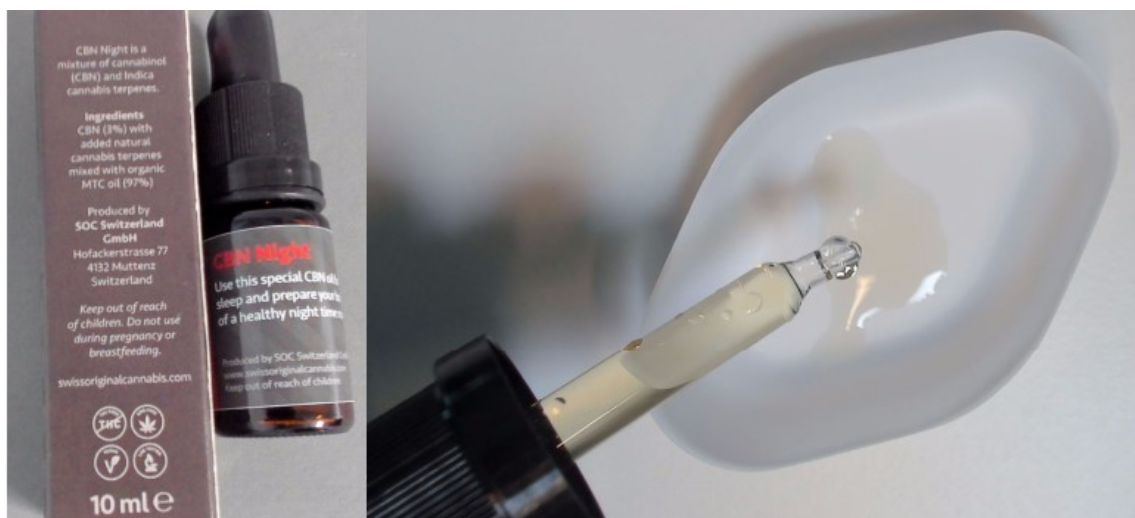
Nello studio di *Rosshem et al.* [84], tra i 118 prodotti venduti online erano presenti almeno 26 sostanze psicotrope quali THC-P, Δ-9 THC, HHC, THC-A, Δ-10 THC, THC-H, THC-B, THC-JD, THC-X, HHC-P, e Δ-11 THC. Complessivamente il 54% dei prodotti era etichettato come Exhale, Delta Extrax, Cake, URB, Looper, e TRE House e ciascuno conteneva da due a otto sostanze psicotrope.

Nel maggio 2022 l'HHC giunge in Europa ed inizialmente viene rilevato in Danimarca in un prodotto contenente CBD e CBN e venduto come “*aiuto al sonno*” (“*CBN night*” in

cui era presente HHC non dichiarato nella confezione e prodotto in Svizzera) (**Figura 5**) [81].

Nell'agosto 2022 in Italia sono stati sequestrati 33 kg di materiale contenente HHC e 88kg di cannabis illegale e ciò dimostra che il commercio di HHC si associa al commercio illegale.

Nel Dicembre 2022 la polizia polacca ha sequestrato 95 litri di HHC come olio per produrre sostanze di consumo alimentare (**Figura 6**). Molti altri sequestri sono avvenuti nella fase in cui l'HHC non era inserito nelle sostanze d'abuso ma la quantità confiscata è verosimilmente solo una piccola quota rispetto a quella in circolazione [81].



**Figura 5. Integratore alimentare “CBN night” contenente HHC.**



**Figura 6: Olio contenente HHC.**

La ricerca sul database PubMed con Key Word “HHC” dal 2014 al 2024, valutando studi abstract, full text e free full text, ha fornito 1021 articoli in lingua inglese. Di questi sono stati esclusi 990 articoli in quanto la Key Word “HHC” identificava argomenti non pertinenti con la sostanza psicotropa, pertanto sono stati utilizzati 31 articoli.

Effettuando la ricerca con la Key word “Hexahydrocannabinol” si sono ottenuti 51 articoli di cui 42 considerati pertinenti in quanto correlati alle NPS, di cui 34 inclusi nella ricerca della Key Word “HHC” e pertanto già presenti in Tabella 1 a cui si aggiungono 8 articoli riportati in Tabella 2 (Tabella 1 e 2).

**Tabella 1**

TITOLO	AUTORE	ANNO DI PUBBLICAZIONE	RIVISTA
Synthesis and pharmacological activity of the epimers of hexahydrocannabinol (HHC)	Russo F. et al.	2023	Scientific reports
Studies Pertaining to the Emerging Cannabinoid Hexahydrocannabinol (HHC)	Nasrallah D.J, Garg N.K	2023	ACS Chemical Biology
Hexahydrocannabinol and closely related semi-synthetic cannabinoids: A comprehensive review	Ujváry I.	2023	Drug testing and analysis
Hexahydrocannabinol Pharmacology, Toxicology, and Analysis: The First Evidence for a Recent New Psychoactive Substance	Graziano S. et al.	2023	Current Neuropharmacology
Hexahydrocannabinol on the Light Cannabis Market: The Latest "New" Entry	Casati S. et al.	2023	Cannabis and Cannabinoid reserch
Quantitation of hexahydrocannabinol (HHC) and metabolites in blood from DUID cases	Kronstrand R. et al.	2024	Journal of analytical toxicology
Appearance of hexahydrocannabinols as recreational drugs and implications for cannabis drug testing - focus on HHC, HHC-P, HHC-O and HHC-H	Helander A. et al.	2024	Scandinavian journal of clinical and laboratory and investigation
LC-MS/MS analysis of 11-nor-9-carboxy-hexahydrocannabinol (HHC-COOH) and 11-hydroxy-hexahydrocannabinol (HHC-OH) for verification of hexahydrocannabinol (HHC) intake	Pettersson P.P, Oxelbark J.	2024	Scandinavian journal of clinical and laboratory and investigation
Immunological detection of hexahydrocannabinol (HHC) in oral fluid	Derne A.S. et al.	2024	Drug testing and analysis
HHC-induced psychosis: a case series of psychotic illness triggered by a widely available semisynthetic cannabinoid	Mahony O' B.	2024	Irish journal of psychological medicine
Hexahydrocannabinol (HHC) and $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol ( $\Delta^9$ -THC) driven activation of cannabinoid receptor 1 results in biased intracellular signalling	Durydivka O.	2024	Scientific reports
Identification of hexahydrocannabinol (HHC), dihydro-iso-tetrahydrocannabinol (dihydro-iso-THC) and hexahydrocannabiphorol (HHCP) in electronic cigarette cartridge products	Tanaka R, Hanajiri R.K.	2024	Forensic toxicology
Identification of human hexahydrocannabinol metabolites in urine	Schirmer W. et al.	2023	European journal of mass spectrometry
Quantification of (9R)- and (9S)-hexahydrocannabinol (HHC) via GC-MS in serum/plasma samples from drivers suspected of cannabis consumption and immunological detection of HHC and related substances in serum, urine, and saliva	Höfert L. et al.	2023	Drug testing and analysis
Saturated Cannabinoids: Update on Synthesis Strategies and Biological Studies of These Emerging Cannabinoid Analogs	Docampo-Palacios M.L. et al.	2023	Molecules
Analytical toxicology of the semi-synthetic cannabinoid hexahydrocannabinol studied in human samples, pooled human liver S9 fraction, rat samples and drug products using HPLC-HRMS-MS	Manier S.K. Et al.	2023	Journal of analytical toxicology
Evidence of 11-Hydroxy-hexahydrocannabinol and 11-Nor-9-carboxy-hexahydrocannabinol as Novel Human Metabolites of $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol	Jørgensen C.F. et al.	2023	Metabolites
Novel C-Ring-Hydroxy-Substituted Controlled Deactivation Cannabinergic Analogues	Kulkarni S. et all.	2016	Journal of medicinal chemistry
A Survey Study of Individuals Using Hexahydrocannabinol Cannabis Products: Use Patterns and Perceived Effects	Ferretti M.L. et al.	2023	Cannabis and Cannabinoid reserch
Human metabolism of the semi-synthetic cannabinoids hexahydrocannabinol, hexahydrocannabiphorol and their acetates using hepatocytes and urine samples	Lindborm K. Et al.	2024	Drug testing and analysis
Disposition of Hexahydrocannabinol Epimers and Their Metabolites in Biological Matrices following a Single Administration of Smoked Hexahydrocannabinol: A Preliminary Study	Di Trana A. et al.	2024	Pharmaceuticals
Insights into the human metabolism of hexahydrocannabinol by non-targeted liquid chromatography-high-resolution tandem mass spectrometry	Pitterl F. et al.	2024	Journal of analytical toxicology
Identification and quantification of both isomers of hexahydrocannabinol, (9R)-hexahydrocannabinol and (9S)-hexahydrocannabinol, in three different matrices by mass spectrometry	C. Bottinelli et all.	2024	Rapid communications in mass spectrometry
Chemical transformation of cannabidiol into psychotropic cannabinoids under acidic reaction conditions: Identification of transformed products by GC-MS	Jeong M. et al.	2023	Journal of food and drug analysis

Investigation of the intrinsic cannabinoid activity of hemp-derived and semisynthetic cannabinoids with $\beta$ -arrestin2 recruitment assays-and how this matters for the harm potential of seized drugs	Janssens L.K. et al.	2024	Archives of toxicology
Cannabidiol and $\Delta 8$ -Tetrahydrocannabinol: Cannabinoids of Rising Interest and Concern	White R.M.	2023	Forensic science review
Types and Brands of Derived Psychoactive Cannabis Products: An Online Retail Assessment, 2023	Rosshem M.E. et al.	2024	Cannabis and Cannabinoid reserch
The first LC-MS/MS stereoselective bioanalytical methods to quantitatively detect 9R- and 9S-hexahydrocannabinols and their metabolites in human blood, oral fluid and urine	Kobidze G. et al.	2024	Journal of pharmaceutical and biomedical analysis
In vitro activation of the CB1 receptor by the semi-synthetic cannabinoids hexahydrocannabinol (HHC), hexahydrocannabinol acetate (HHC-O) and hexahydrocannabiphorol (HHC-P)	Persson M. et al.	2024	Drug testing and analysis
Isolation and characterization of synthesis intermediates and side products in hexahydrocannabiphorol	Shirmer W. Et al.	2023	Drug testing and analysis
Intoxicating Cannabis Products in Vape Shops: United States	Rosshem M.E et al.	2023	American Journal of preventive medicine
The Dark Side of Cannabidiol: The Unanticipated Social and Clinical Implications of Synthetic $\Delta 8$ -THC	Geci M.	2023	Cannabis and Cannabinoid reserch

**Tabella 2**

TITOLO	AUTORE	ANNO DI PUBBLICAZIONE	RIVISTA
Hexahydrocannabinol poisoning reported to French poison centres	Labadie M. et al.	2024	Clinical toxicology
Cannabis Vaping: Existing and Emerging Modalities, Chemistry, and Pulmonary Toxicology	Atrash J.M, Rahman I.	2021	Chemical research in toxicology
Oxa-adamantyl cannabinoids	Ho T.C et al.	2021	Bioorganic and medicinal chemistry letters
Enantioselective Total Synthesis of Potent 9 $\beta$ -11-Hydroxyhexahydrocannabinol	Maurya V, Appayee C.	2020	The journal of organic chemistry
Conversion of Cannabidiol Following Oral Administration: Authors' Response to Grotenhermen et al.	Miller	2017	Cannabis and cannabinoid research
C1'-Azacycloalkyl Hexahydrocannabinols	Hoh T.C et al.	2017	Journal of natural products
Cross-Reactivity of 24 Cannabinoids and Metabolites in blood using the immunalysis cannabinoids direct enzyme-linked immunosorbent assay kit	Patton A.L et al.	2024	Journal of analytical toxicology
Czech Republic latest country to ban hexahydrocannabinol	Holt E.	2024	Lancet

## 9.1 DIFFUSIONE DELL'HHC

L'ampia e rapida diffusione dell'HHC è riconducibile a notevoli mutamenti nel mercato della droga ed in particolare della *Cannabis*:

- Accettazione sociale della *Cannabis* per uso voluttuario o auto medicazione visto come privo del rischio di dipendenza e sostanzialmente innocuo.
- La depenalizzazione della cannabis per uso ricreazionale (piccole quantità ad uso personale) ma con legislazioni eterogenee diverse da Stato a Stato e con diversa accessibilità.
- Il profondo cambiamento nella coltivazione della Canapa determinato dal Farm Bill nel 2018 negli Stati Uniti in cui la coltivazione industriale della Canapa con contenuto di THC <0.3 % di peso secco viene separata dalla definizione di Marijuana. Da ciò la crescita esponenziale della coltivazione della canapa e della produzione di derivati a basso contenuto di THC ed alto di CBD.
- La sovrapproduzione di CBD ed il prevedibile crollo dei prezzi spinge i produttori ad inserire il cannabidiolo su dolci, caramelle gommose, alimenti, cosmetici. Inoltre la libera vendita, i bassi prezzi, le confezioni accattivanti, il marketing intenso e vendite

online hanno notevolmente ampliato il consumo di prodotti contenenti CBD per diversi anni.

In questo scenario agiscono i cosiddetti Drug's Designer ovvero artigiani delle droghe capaci di modificare la struttura molecolare dei precursori chimici per renderli legalmente commerciabili.

Nel caso dell'HHC la procedura è semplice ed effettuata partendo da prodotto naturale ampiamente disponibile che identifica l'HHC come cannabinoide semi-sintetico.

## 9.2 SINTESI DELL'HHC

La produzione di HHC è principalmente realizzata utilizzando il CBD proveniente dalla coltivazione industriale di canapa e legalmente commercializzato. In tal modo il CBD si trasforma da prodotto a precursore di cannabinoidi semisintetici dei quali l'HHC è la new entry. È possibile produrre HHC dal THC ma per la produzione su larga scala si utilizza principalmente il CBD come molecola di partenza.

La produzione di HHC dal CBD avviene in due semplici passaggi [79,80,85-87].

Il primo step avviene con la ciclizzazione acida del CBD che viene trasformato in una miscela di  $\Delta 8$  e  $\Delta 9$  THC ed il rapporto fra i due isomeri dipende dalle condizioni di acidità del mezzo in cui avviene la reazione. La miscela di  $\Delta 8$  e  $\Delta 9$  THC viene poi sottoposta ad idrogenazione catalitica dei due isomeri che genera i due epimeri dell'HHC, (S) e (R) o  $9\alpha$ -HHC e  $9\beta$ -HHC (**Figura 7 e 8**).

In alcuni studi *in vitro* è stato evidenziato che  $9(R)$ -HHC attiva il recettore CB1 dei cannabinoidi come agonista parziale, mentre l'epimero  $9(S)$ -HHC non ha mostrato alcuna attivazione [88,89].

Similmente, nell'uomo, l'epimero  $9(R)$ -HHC possiede un'attività psicoattiva superiore rispetto all'epimero  $9S$ -HHC; il rapporto tra le due forme isomeriche varia notevolmente in base al mezzo acido per cui ci possono essere ampie differenze tra i diversi prodotti [80,82,90]. Inoltre, i produttori non sono obbligati ad esplicitare il rapporto tra i 2 epimeri R ed S ma soltanto la % di HHC presente.

I prodotti dell'HHC commercializzati possono essere contaminati da residui di estrazione, da sottoprodotti sintetici e da tracce di metalli pesanti provenienti dal catalizzatore utilizzato per l'idrogenazione [80].

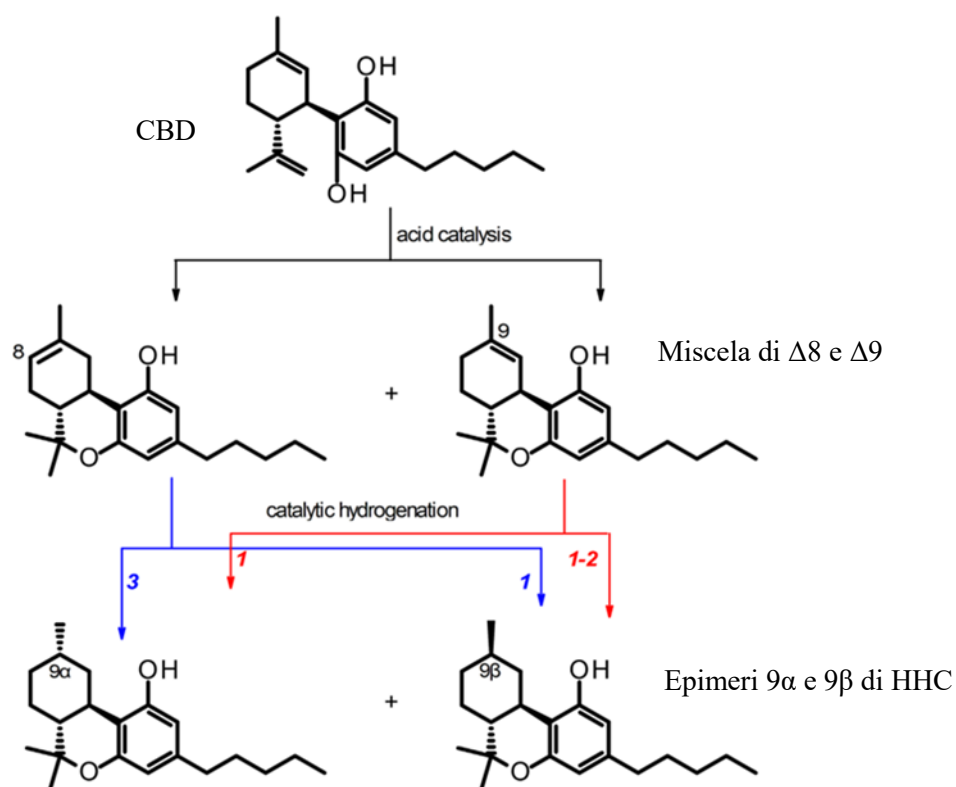


Figura 7: sintesi dell'HHC a partire dal CBD.

	HHC (unspecified stereochemistry)	$9\beta$ -HHC or (9 <i>R</i> )-HHC	$9\alpha$ -HHC or (9 <i>S</i> )-HHC
Molecular formula	$C_{21}H_{32}O_2$	$C_{21}H_{32}O_2$	$C_{21}H_{32}O_2$
Molecular mass	316.48	316.48	316.48
Monoisotopic mass	316.2402	316.2402	316.2402

Figura 8: struttura chimica dell'HHC e dei suoi epimeri  $9\beta$ -HHC e  $9\alpha$ -HHC.

### 9.3 VIE DI ASSUNZIONE DELL'HHC

La principale via di assunzione è inalatoria, mediante fumo di sigarette preparate con una miscela di tabacco e HHC o sigarette elettroniche. Inoltre può essere ingerito come tintura su alimenti, dolciumi, infusi oppure assunto per via sublinguale come olio [81,91,92].

### 9.4 METODI DI RILEVAMENTO DELL'HHC IN CAMPIONI BIOLOGICI

I test di laboratorio per rilevare alcool e droghe rappresentano fondamentali pilastri per il controllo della loro pericolosità o svelare uso di sostanze illegali pericolose per la salute pubblica.

La necessità di sviluppare tecniche analitiche applicabili su diversi campioni biologici, capaci di rilevare gli epimeri 9(R)-HHC e 9(S)-HHC dell'HHC ed i loro metaboliti e pertanto di studiarne la farmacocinetica, è di notevole importanza.

A tale scopo, nel 2024, *Kobidze G. et al.* [93] hanno prelevato da 2 volontari sani di sesso maschile, campioni di sangue, urine e saliva, in diversi tempi, dopo singola assunzione controllata di una sigaretta contenente 500 mg di tabacco e 25 mg di estratto puro di HHC. Questi campioni sono stati analizzati con cromatografia liquida accoppiata alla spettrometria di massa (LC-MS/MS). Dall'analisi è emerso che gli intervalli delle concentrazioni medie degli epimeri 9(R)-HHC e 9(S)-HHC nel sangue erano rispettivamente 2,5-68,4 e 2,2-26,1 ng/mL, mentre nelle urine la concentrazione media variava da 2,8-11,2 ng/mL per 9(R)-HHC e 2,1-20,6 ng/mL per 9(S)-HHC.

Infine nella saliva, gli intervalli di concentrazione media erano 0,5-228 ng/mL per 9(R)-HHC e 2,1-120,4 ng/mL per 9(S)-HHC.

Inoltre nei campioni di urina sono stati rilevati metaboliti quali: 11-Nor-9R-(COOH)-HHC, risultato il più rappresentato, 11-Nor-9S-(COOH)-HHC, 11-(OH)-9R-HHC e 9 $\alpha$ -(OH)-HHC.

Nel sangue, sono stati riscontrati 3 metaboliti: 11-Nor-9R-(COOH) -HHC, 11-Nor-9S-(COOH) -HHC and 11-(OH) -9R-HHC.

Per quanto riguarda i metaboliti 8-(OH) -HHC, non sono stati rilevati in nessuno dei fluidi biologici analizzati.

Infine, nella saliva, non sono stati rilevati metaboliti dell'HHC.

Tramite questo studio è stato sviluppato e validato per la prima volta, un metodo analitico in LC-MS/MS, per la simultanea determinazione e quantificazione degli epimeri dell'HHC e dei loro metaboliti su urine, sangue e saliva.

Nello studio di *Di Trana et al.* [94] sono stati reclutati 6 volontari (4 uomini e 2 donne), consumatori occasionali di *Cannabis*, a cui è stato chiesto di fumare una sigaretta preparata con 500mg di tabacco e 25 mg di estratto puro di HHC e contenente una miscela bilanciata 50:50 dei 2 epimeri 9(R)-HHC e 9(S)-HHC. Una volta terminata la sigaretta, sono stati raccolti campioni di sangue, urina e saliva.

Questi campioni biologici sono stati poi analizzati utilizzando la cromatografia liquida accoppiata alla spettrometria di massa (LC-MS/MS), metodo convalidato per quantificare gli epimeri 9(R)-HHC e 9(S)-HHC insieme ad altri 8 metaboliti dell'HHC.

Dai risultati è emerso che la concentrazione media del 9(R)-HHC è 3 volte superiore a quella del 9(S)-HHC in tutti i campioni biologici analizzati.

Inoltre i 2 epimeri hanno mostrato un profilo simile nel sangue e nella saliva, raggiungendo una concentrazione massima superiore a 100ng/mL in circa 30 min e simile eliminazione. Per questo motivo, la saliva potrebbe essere considerata come matrice biologica alternativa per il monitoraggio e l'analisi tossicologica dell'HHC.

Nelle urine la quantità escreta di 9(S)-HHC in 6 ore è risultata il doppio di quella del 9(R)-HHC.

Per quanto riguarda i metaboliti dell'HHC, non sono stati rilevati nella saliva, mentre nel sangue e nelle urine sono stati osservati come glucuronidi ma con profili diversi: nel sangue il metabolita prevalente era l'11nor-9(R)-HHC, mentre nelle urine era l'8(S)OH-9(S)HHC.

In un ulteriore studio di *Kronstrand et al.* [95] sono stati considerati campioni di sangue di soggetti che guidavano sotto l'effetto di droghe, positivi alla *Cannabis* ma negativi al THC ed ai suoi metaboliti (11-idrossi-THC e THC-COOH), utilizzando il test ELISA.

Gli stessi campioni sono stati nuovamente analizzati con LC-MS/MS. È stato evidenziato che il 9(R)-HHC-COOH era il principale metabolita seguito dall'11-(OH)-9R-HHC. Pertanto, i casi presumibilmente positivi possono essere rilevati dal test di screening ELISA per la *Cannabis*.

La metodica LC-MS/MS è risultata efficace in numerosi studi per la determinazione degli epimeri e metaboliti dell'HHC su vari campioni biologici [96-100].

In aggiunta, in uno studio *in vitro*, eseguito da *Lindborm et al.* [101], l'HHC ed i suoi derivati HHC-P, HHC-O e HHCP-O sono stati incubati con epatociti umani al fine di comprenderne il metabolismo.

Nel medesimo studio sono stati considerati campioni di urina selezionati da casi risultati positivi allo screening per la cannabis nel sangue utilizzando il test immunoenzimatico (ELISA) ma confermati negativi per THC ed i suoi metaboliti e positivi per HHC nel sangue.

In seguito, i campioni di epatociti incubati ed i campioni di urina sono stati analizzati con LC-MS. La glucuronidazione, l'idrossilazione e la deidrogenazione sono state le uniche biotrasformazioni identificate per HHC in entrambi i tipi di campione.

Uno studio simile è stato effettuato da *Manier S.K. et al.* utilizzando epatociti umani e di ratto [102].

## 10. DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

La *Cannabis Sativa* è una pianta dalle origini antiche, utilizzata dapprima come produttrice di fibre e come fitoterapico empirico ed in seguito come sostanza psicoattiva [1,2]. Dei numerosi composti presenti nella pianta, i due più studiati sono il  $\Delta^9$ -THC, a cui è attribuito un effetto psicotropo, ed il CBD, a cui non è attribuito un effetto psicotropo ma un'attività antinfiammatoria, antiproliferativa, antidolorifica, antiemetica, di mediatore dell'impulso nervoso, nonché di possibile modulatore dell'effetto psicotropo del  $\Delta^9$ THC stesso [1,2].

Nel corso del tempo sono stati compiuti molti tentativi per modificare la struttura chimica del  $\Delta^9$ THC al fine di eliminarne l'effetto psicotropo e la potenziale dipendenza. In realtà soltanto pochissimi prodotti sintetici tra quelli testati per efficacia e sicurezza sono stati approvati dalle autorità regolatorie e con limitate indicazioni quali: il trattamento dell'anoressia nei pazienti con AIDS e nella terapia del vomito da chemioterapia [19].

D'altra parte le conoscenze scaturite dalla ricerca sperimentale sono diventate ben presto appannaggio dei laboratori clandestini con produzione e distribuzione di nuove molecole per un uso voluttuario nell'esteso mercato dei prodotti psicotropi.

L'altro componente della *Cannabis*, il CBD, non presentando un effetto psicotropo, poteva essere liberamente commercializzato. La sua proprietà antiepilettica ha portato all'

introduzione in terapia per il trattamento di forme epilettiche nei bambini refrattarie alle altre terapie antiepilettiche (Epidiolex).

La possibilità di commercializzare *Cannabis* a basso contenuto di THC e ad alto contenuto di CBD (*Light Cannabis*) e l'introduzione nella legislazione degli Stati Uniti del Farm Bill Act nel 2018 che separa la definizione di Marijuana (THC > 0.3% di peso secco) dalla definizione di Canapa (THC < 0.3% o < 0.2% in Italia) ha modificato notevolmente il mercato mondiale della Cannabis con produzione di ampie quantità di CBD per la realizzazione di bevande, dolci, prodotti di bellezza e prodotti per svaping. La disponibilità di CBD, i bassi prezzi e la capacità dei “*Drug’s Designer*” ovvero “artigiani delle droghe” capaci di modificare la struttura molecolare dei precursori chimici per renderli legalmente commerciabili, ha condotto alla comparsa del primo cannabinoide semi-sintetico l’Esaidrocannabinolo (HHC) come derivato del CBD.

La trasformazione del CBD è relativamente semplice: il primo step della reazione consiste nella ciclizzazione acida del CBD che conduce alla formazione di una miscela di  $\Delta 8$ -THC e  $\Delta 9$ -THC. Quest’ultima viene poi sottoposta ad idrogenazione catalitica generando i due epimeri dell’HHC, (S) e (R) o  $9\alpha$ -HHC e  $9\beta$ -HHC. Il CBD da “prodotto” diventa pertanto “produttore” di HHC.

L’HHC essendo un esaidroderivato inizialmente non rientrava nella legislazione sulle sostanze psicotrope per cui poteva essere liberamente commercializzato e venduto come “alternativa legale” della *Cannabis*, da ciò la sua rapida diffusione in Europa e Stati Uniti. Delle due forme epimeriche che compongono l’HHC, 9(R)-HHC e 9(S)-HHC, l’epimero 9R-HHC possiede un’attività psicoattiva superiore rispetto all’epimero 9S-HHC; il rapporto fra i due isomeri dipende dalle condizioni di acidità del mezzo in cui avviene la reazione per cui ci possono essere ampie differenze tra i diversi prodotti in termini di effetto psicotropo [80,82,90]. La principale via di assunzione è inalatoria, mediante fumo di sigarette preparate con una miscela di tabacco e HHC o sigarette elettroniche. Inoltre può essere ingerito come tintura su alimenti, dolciumi, infusi oppure assunto per via sublinguale come olio [81,91,92].

I dati attualmente disponibili indicano che gli effetti dell’HHC sull’uomo sono sovrapponibili agli effetti del  $\Delta 9$ THC pertanto l’HHC è una molecola che presenta una tossicità e pericolosità non trascurabili. Sono segnalati casi di avvelenamento nei bambini da assunzione accidentale ed effetti avversi come episodi di psicosi [65-67].

Le conoscenze sul metabolismo e la farmacocinetica dell'HHC sono scarse.

La comparsa di una nuova molecola come l'HHC che mostra una rapida ed ampia diffusione, presentandosi come alternativa legale alla *Cannabis*, comporta sia sfide rilevanti ed insolite nella tossicologia clinica e forense ma ha anche importanti ripercussioni sulla salute pubblica, sui professionisti della salute, sulle forze dell'ordine e sugli organi decisionali delle istituzioni.

L'HHC dopo le segnalazioni al sistema di allerta precoce delle droghe è stato inserito nel gruppo delle nuove sostanze psicoattive (NPS).

I test di laboratorio per rilevare alcool e droghe rappresentano fondamentali pilastri per il controllo della loro pericolosità. Nel caso dell'HHC lo sviluppo di metodologie analitiche per la determinazione dei suoi isomeri e dei suoi metaboliti nei fluidi biologici assume una rilevanza notevole soprattutto se si correla la concentrazione rilevata, con la sintomatologia clinica osservata come nel caso delle intossicazioni acute.

Negli studi di *Kobidze et al.* [93] e *Di Trana et al.* [94] viene validato per la prima volta un metodo di rilevamento degli epimeri del HHC e dei suoi metaboliti su campioni biologici quali sangue, urine e saliva, utilizzando la tecnica LC-MS/MS.

I risultati ottenuti da questi studi possono essere applicati ad una coorte più ampia di soggetti, al fine di chiarire la farmacocinetica di questa nuova NPS in considerazione del suo nuovo status di sostanza illecita. È altresì importante una continua attenzione per individuare tempestivamente ulteriori nuove sostanze psicoattive, per evitare importanti conseguenze sulla salute pubblica, soprattutto sulle fasce più giovani della popolazione.

## BIBLIOGRAFIA

1. Bonini S.A, Premoli M, Tambaro S, et al. Cannabis sativa: A comprehensive Ethnopharmacological review of a medicinal plant with a long history. *Journal of Ethnopharmacology* 2018; 227:300-315.
2. Pisanti, S; Bifulco, M. Modern History of Medical Cannabis: From Widespread Use to Prohibitionism and Back. *Trends in Pharmacological Sciences*. 2017, 38, 195–198.
3. United Nations single convention on Narcotic drugs 1961. [www.unodc.org](http://www.unodc.org).
4. Disciplina degli stupefacenti e sostanze psicotrope. Prevenzione, cura e riabilitazione dei relativi stati di tossicodipendenza. L. 22 dicembre 1975, n. 685. [https://www.politicheantidroga.gov.it/media/1224/010-l-685-del-22\\_12\\_1975.pdf](https://www.politicheantidroga.gov.it/media/1224/010-l-685-del-22_12_1975.pdf).
5. European Monitoring Centre for Drugs and Drug- Addiction 2023 – Cannabis the Current Situation in Europe (European Drug Report 2023). [https://www.emcdda.europa.eu/publications/european-drug-report/edr23\\_en](https://www.emcdda.europa.eu/publications/european-drug-report/edr23_en).
6. Dipartimento delle politiche antidroga. On line [osservatoriodpa.it](http://osservatoriodpa.it) -sequestri
7. Brunetti P, Pichini S, Pacifici R, Busardò F.P, Del Rio A. Herbal Preparations of Medical Cannabis: A Vademecum for Prescribing Doctors. *Medicina (Kaunas)*. 2020; 56:23.
8. Radwan, M.M, Chandra S, Gul S, ElSohly M.A. Cannabinoids, Phenolics, Terpenes and Alkaloids of Cannabis. *Molecules*. 2021, 26, 2774.
9. Gaoni, Y, Mechoulam R. Isolation, structure, and partial synthesis of an active constituent of hashish. *Journal of the American Chemical Society*. 1964, 86, 1646–1647.
10. Mechoulam R, Shvo Y. Hashish. I. The structure of Cannabidiol. *Tetrahedron*. 1963, 19, 2073–2078.
11. Mechoulam R, Gaoni Y. A Total Synthesis of dl- $\Delta^1$ -Tetrahydrocannabinol, the Active Constituent of Hashish. *Journal of the American Chemical Society*. 1965, 87, 3273–3275.
12. Mechoulam R, Varconi H, Ben-Zvi Z, Edery H, Grunfeld Y. Synthesis and biological activity of five tetrahydrocannabinol metabolites. *Journal of the American Chemical Society*. 1972, 94, 7930–7931

13. Mechoulam R, Braun P, Gaoni Y. "Syntheses of  $\Delta$ 1-Tetrahydrocannabinol and Related Cannabinoids". *Journal of the American Chemical Society*. 1972, 94, 6159–6165.
14. Geci M, Scialdone M, Tishler J. The dark side of cannabidiol: the unanticipated social and clinical Implications of syntethic  $\Delta$ 8-THC. *Cannabis and Cannabinoid Reasearch* 2023; 8(2):270-282.
15. European Union Drugs Agency. EU Drug Market. New psychoactive substances -Distribution and Supply in Europe. [https://www.euda.europa.eu/publications/eu-drug-markets/new-psychoactive-substances/distribution-andsupply/semi-synthetic-cannabinoids\\_en](https://www.euda.europa.eu/publications/eu-drug-markets/new-psychoactive-substances/distribution-andsupply/semi-synthetic-cannabinoids_en).
16. Solimini R, Busardo' F.P, Rotolo MC, Ricci S, Mastrobattista L, Mortali C, Graziano S, Plelgrini M, DiLuca N.M, Palmi I. Hepatrotoxicity associated to Synthetic cannabinoid use *European Review for Medical and Phamacological Sciences*. 2017;21(1 suppl):1-6
17. Marisol S. Castaneto, David A. Gorelick, Nathalie A. Desrosiers, Rebecca L. Hartman, Sandrine Pirard, and Marilyn A. Huestis. Synthetic Cannabinoids: Epidemiology, Pharmacodynamics, and Clinical Implications *Drug Alcohol Depend*. 2014 November 1; 0: 12–41.
18. Roque-Bravo R, Silva R.S, Malheiro R.F, Carmo H, Crarvalho F, DaSilva D, Silva J.P. Synthetic Cannabinoids: a pharmacological and Toxicological Overview. *Annual Review of Phamacology and Toxicology* 2023.63:187-209
19. Kemp A.M Clark M.S,Dobbs T, Galli R, ShermanJ, Cox R: Top 10 facts you need to Know about Syntethic cannabinoids:not so nice spic. *American Journal of medicine* 2016:129,240-44
20. Legare C.A, Konsavage W.M.R, Vrana K.E: Therapeutic Potential of Cannabis, Cannabidiol and Cannabinoid -Based Pharmaceuticals.*Pharmacology* 2022:107;131-149
21. Caprari, C, Ferri, E, Vandelli, M.A. et al. An emerging trend in Novel Psychoactive Substances (NPSs): designer THC. *Journal of cannabis Research* 6, 21 (2024).
22. Huffman JW, Dai D. Design, synthesis and pharmacology of cannabimimetic indoles. *Bioorganic and medical chemistry letters*. 1994; 4:563–566.

23. Huffman JW, Mabon R, Wu M-J, Lu J, Hart R, Hurst DP, Reggio PH, Wiley JL, Martin BR. 3- Indolyl-1-naphthylmethanes: new cannabimimetic indoles provide evidence for aromatic stacking interactions with the CB1 cannabinoid receptor. *Biorganic and medical chemistry letters*. 2003; 11:539–549.
24. Huffman JW, Szklennik PV, Almond A, Bushell K, Selley DE, He H, Cassidy MP, Wiley JL, Martin BR. 1-Pentyl-3-phenylacetylindoles, a new class of cannabimimetic indoles. *Biorganic and medical chemistry letters Lett*. 2005a; 15:4110–4113.
25. Huffman JW, Zengin G, Wu M-J, Lu J, Hynd G, Bushell K, Thompson ALS, Bushell S, Tartal C, Hurst D.P, Reggio PH, Selley DE, Cassidy MP, Wiley J.L, Martin B.R. Structure-activity relationships for 1-alkyl-3-(1-naphthoyl)indoles at the cannabinoid CB1 and CB2 receptors: steric and electronic effects of naphthoyl substituents. New highly selective CB2 receptor agonists. *Biorganic and medical chemistry letters* 2005b; 13:89–112.
26. Makriyannis, A; Deng, H. Cannabimimetic Indole Derivatives. US Patent Office; Washington, DC: 2000.
27. Makriyannis, A; Deng, H. Receptor Selective Cannabimimetic Aminoalkylindoles. US Patent Office; Washington, DC: 2007
28. Buchler, I; Hayes, M; Hedge, S; Hockerman, S; Eugene, D; Kortum, S; Rico, J; Tenbrink, R; Wu, K. Patent, U. (Ed.), CA 2714573 A1. United States: 2009. Indazole derivatives; p. 1-283.
29. European Union Drugs Agency. EU Drug Market: New psychoactive substances - Distribution and Supply in Europe: Synthetic Cannabinoids 2024  
[https://www.euda.europa.eu/publications/european-drug-report/2024/new-psychoactive-substances\\_en](https://www.euda.europa.eu/publications/european-drug-report/2024/new-psychoactive-substances_en)
30. European Union Drugs Agency:  
[https://www.euda.europa.eu/publications/european-drug-report/2024/new-psychoactive-substances\\_en](https://www.euda.europa.eu/publications/european-drug-report/2024/new-psychoactive-substances_en)
31. Di Trana A, Montana A, Lofaro F, Busardò F.P. Molecular Insights of New Psychoactive Substances (NPS) 2.0. *International Journal of Molecular Sciences* 2023; 24,17492

32. Di Trana A, Berardinelli D, Tini A, Zaami S. The targeted analysis of New Psychoactive Substances in oral fluid through chromatographic -spectrometric methods: review of recent findings .European Review for Medical and Pharmacological Sciences. 2022;26:750-754
33. Di Marzo V, Piscitelli F. The Endocannabinoid System and its modulation by phytocannabinoids. *Nurotherapeutics* 2015;12:692-69
34. Zou S. Kumar U: Cannabinoid Receptors and Endocannabinoid System: Signaling and function in the Central Nervous System. *International Journal of Molecular Sciences* 2018; 19,833
35. Di Marzo, V; Bifulco, M; Petrocellis, L. The endocannabinoid system and its therapeutic exploitation. *Nature Reviews. Drug Discovery* 2004, 3, 771-784.
36. Henry Lowe, Ngeh Toyang, Blair Steele, Joseph Bryant 1 Wilfred Ngwa; The Endocannabinoid System: A Potential Target for the Treatment of Various Diseases. *International journal of molecular sciences* 2021 Aug 31;22(17):9472
37. Katona I. Freund TF: Endocannabinoid signaling as a synaptic circuit breaker in neurological disease. *Nature Medicine* 2008 14;923-930
38. Devane, W.A; Dysarz, F.A., 3rd; Johnson, M.R; Melvin, L.S; Howlett, A.C. Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. *Molecular Pharmacology* 1988, 34, 605–613. 3.
39. Munro S, Thomas K.L, Abu-Shaar M. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature*. 1993;2;365:61-5
40. Ebbert J.O, Scharf E.L, Hurt. *Medical Cannabis*. *Mayo Clinic Proceedings*. 2018;93(12) 1842-1847.
41. White R.M. Cannabidiol and  $\Delta^8$ -Tetrahydrocannabinol: Cannabinoids of Rising Interest and Concern. *Forensic Science Review*. 2023 Jan; 35(1):27-45.
42. AHA Scientific statement. *Medical Marijuana, recreational Cannabis and Cardiovascular Health, A scientific statement from the America Heart Association*. *Circulation* 2020; 142:e131-e152
43. Janssens L.K, Van Uytfanghe K, Williams J.B, Hering K.W, Iula D.M, Stove P. C: Investigation of the intrinsic cannabinoid activity of hemp-derived and semisynthetic cannabinoid with Beta -arrestin 2 recruitment assays and how this matters for the harm potential of seized drugs. *Archives of toxicology* 2024

44. Blebea, N.M; Pricopie, A.I; Vlad, R.-A; Hancu, G. Phytocannabinoids: Exploring Pharmacological Profiles and Their Impact on Therapeutical Use. *International Journal of Molecular Sciences Sci.* 2024, 25, 4204.
45. Howlett, A.C; Blume, L.C; Dalton, G.D. CB1 cannabinoid receptors and their associated proteins. *Current Medical Chemistry.* 2010, 17, 1382-1393.
46. Poyatos L. Perez -Acevedo A.P, Papaseit E, Perez-Mana C, Martin S, Hladun O, Silwes A, Torres M, Busardò FP. Farrè M. Oral administration of cannabis and  $\Delta$ -9-tetrahydrocannabinol (THC) preparatrons: a systematic review. *Medicina* 2020, 56,309
47. Volkow N.D, Baler R.D, Compton W.M, Weiss Susan RB. Adverse effects of Marijuana Use. *The new england journal of medicine* 2014; 5;370:23
48. Costa M.A, Fonseca B.M, Marques F, Teixeira N.A, Correia da Silva G. The psychoactive compound of Cannabis sativa,  $\Delta$ 9-tetrahydrocannabinol (THC) inhibits the human trophoblast cell turnover. *Toxicology* 2015; 33:94-103
49. Torri D.M, Stickrath E.H: Marijuana use in pregnancy and lactation: a review of the evidence. *American journal of obstecites and ginecology* 2015; 213: 761-768
50. Kuepper R. Van OSJ, Lieb R.Wittchen HU, Hoffer M Henquet C. Continued cannabis use and risk of incidence abd persistence of psychotic symptoms : 10 years follow-up cohort study .*BMJ* 2011:1 Mar:342
51. Brunetti P, LoFaro A.F, Pirani F, Berretta P, Pacifici R. Pichini S, Busardo' F.P; Phamacology and legal status of cannabidiol. *Annali. Istituto Superiore di Sanità* 2020;vol56(:285-291,3)
52. Huestis M.A. Solimini R, Pichini S, Pacifici R. Carlier J. Busardo' F.P. Cannabidiol Adverse Effects and toxicity. *Current Neuropharmacology* 2019 ,17: 974-989
53. McGuire P, Robson P, Cubala W.J, Vasile D, Morrison P.D, Barron R, et al. Cannabidiol (CBD) as an adjunctive therapy in schizophrenia: a multicenter randomized controlled trial. *The american journal of psychiatry.* 2018; 175:225-31.
54. Morgan C.J.A, Schafer G, Freeman T.P, Curran H.V. Impact of cannabidiol on the acute memory and psychotomimetic effects of smoked cannabis: naturalistic study . *The british journal of psychiatry.* 2010; 197:285-90.

55. Morgan C.J.A, Curran H.V. Effects of cannabidiol on schizophrenia-like symptoms in people who use cannabis. *The british journal of psychiatry*. 2008; 192:306-7.
56. Englund A, Morrison P.D, Nottage J, Hague D, Kane F, Bonaccorso S, et al. Cannabidiol inhibits THC-elicited paranoid symptoms and hippocampal-dependent memory impairment. *Journal of Psychopharmacology* 2013;27:19–27.
57. Morgan C.J.A, Freeman T.P, Hindocha C, Schafer G, Gardner C, Curran H.V. Individual and combined effects of acute delta-9-tetrahydrocannabinol and cannabidiol on psychotomimetic symptoms and memory function. *Translational Psychiatry*. 2018;8:181.
58. Englund A, Oliver D, Chesney E, Chester L, Wilson J, Sovi S, De Micheli A, Hodsoll J, Poli P.F, John Strang J, R.M. Murray, Tom P. Freeman, Philip McGuire. Does Cannabidiol make cannabis safer? A randomised, double-blind, cross-over trial of cannabis with four different CBD:THC ratios. *Neuropsychopharmacology* 2023;48:869-876
59. Nasrin S, SBRdhiK C, Watson C, Muscat J.E, Lazarus P: Inhibition of Nicotine Metabolism by cannabidiol (CBD) and 7-hydroxycannabidiol (7-OH-CBD) *Chemical research in toxicology* 2023,36,177-187
60. Springer Y.P, Gerona R, Scheunemann E, Shafer S.L, Lin T, Banister S.D, Cooper M.P, Castrodale L.J, Levy M, Butler J.C, McLaughlin J.B. Increase in Adverse Reactions Associated with Use of Synthetic Cannabinoids - Anchorage, Alaska, 2015-2016 *MMWR Morbidity and mortality weekly report* 2016 Oct 14;65(40):1108-1111
61. Skipina T.M, Upadhyya B, Soliman E.Z. Cannabis Use and Electrocardiographic Myocardial Injury. *American journal of cardiology*. 2021;151:100-104.
62. Trappey B.E, Olson APJ. Running Out of Options: Rhabdomyolysis Associated with Cannabis Hyperemesis Syndrome. *Journal of general internal medicine*. 2017;32:1407-1409
63. Bhanushali GK, Jain G, Fatima H, Leisch LJ, Thornley-Brown D. AKI associated with synthetic cannabinoids: a case series. *Clinical journal of the american society of nephrology*. 2013;8:523-6.
64. Swetlik C, Migdady I, Hasan LZ, Buletko AB, Price C, Cho SM. Cannabis Use and Stroke: Does a Risk Exist? *Journal of addiction medicine*. 2022;01;16:208-215.

65. O'Mahony B, O'Malley A, Herrigan O, Ncdonal C: HHC-Induced psychosis : a case series of Psycotic illness triggered by a widely available semisynthetic cannabinoid. *Irish Journal of Psychological Medicine* 2024: 1-4
66. Labadie M, Nardon A, Castaing N, Braganca C, Daveluy A, Gaulier J, Mel balkhi S, Grenouillet M, TournoudvC. Hexahydrocannabinol poisoning reported to French Poison Centres .2024 *Clinical toxicology*; 62(2):112-119
67. Ferretti M.L, Gournay R, Bingaman M.G, Leen-Feldner E.W. A Survey Study of Individuals Using Hexahydrocannabinol Cannabis Products: Use Patterns and Perceived Effects. *Cannabis and Cannabinoid reserch*; Published Online: 7 November 2023
68. Ebbert J.O, Scharf E.L, Hurt R.T. Medical cannabis. *Mayo Clinic Proceedings* 2018; 93(12):1842-1847
69. Pichini S, Lofaro A.F, Busardò F.P, Giorgetti R. Medical cannabis and Synthetic cannabinoid Use. *Medicina (Kaunas)*. 2020; 56,453.
70. Cartabellotta A, Iacono C. Uso terapeutico della Cannabis nel dolore cronico: efficacia ed eventi avversi. *Evidence* 2017; 9:9.
71. Hill K.P, Palastro M.D Medical cannabis for the treatment of chronic pain an others disorders: misconceptions and facts. *Polish Archives of Internal Medicine*. 2017;127:785-789.
72. Regolamento (UE) n. 1307/2013- norme sui pagamenti diretti agli agricoltori nell'ambito della politica agricola comune dell'Unione  
<http://data.europa.eu/eli/reg/2013/1307/oj>
73. US Department of Agriculture (USDA). "2018 Farm Bill".  
<https://www.nrcs.usda.gov/wps/portal/nrcs/detail/national/programs/ farmbill>
74. Gazzetta Ufficiale Serie Generale n.172 del 25-07-2023.
75. Gazzetta Ufficiale Serie Generale n.157 del 06-07-2024.
76. Adams, R., Pease, D, Cain, C. & Clark, J. Structure of cannabidiol. VI. Isomerization of cannabidiol to tetrahydrocannabinol, a physiologically active product. Conversion of cannabidiol to cannabinol. *Journal of the american chemistry society*. 62, 2402–2405.1940.
77. Todd AR. Hashish [Hashish]. *Experientia*. 1946; 15;2:55-6

78. Jacob A, Todd AR. Cannabis indica. Part II. Isolation of cannabidiol from Egyptian hashish. Observations on the structure of cannabinol. Journal of the chemical society. 1940;649-653.
79. Ujvary I. Hexahydrocannabinol and closely related semi-synthetic cannabinoidis 2024 Drug testing and analysis 16: 127-161
80. Ujvary I. Hexahydrocannabidiol: review of the chemistry and pharmacology of an understudied cannabinoid. Medical Cannabis Cannabinoids 2023: 5(1)165
81. European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction. Hexahydrocannabinol (HHC) and related Substances Technical report 2023
82. Casati S, Rota, Bergamaschi R.F, Palmisano E, La Rocca P, Ravelli A, Angeli I, Minoli M, Roda G, Orioli M. Hexahydrocannabinol on the light Cannabis Market: The latest New Entry. Cannabis and Cannabinoid Research 2024 9: 622-628
83. Graziano S, Vari MR, Pichini S, Busardo F.P, Cassano T, Di Trana A.G. Hexahydrocannabinol pharmacology. Toxicology and Analysis: the first evidence for a recent new psychoactive substance. Current Neuropharmacology 2023, 21,2424-243
84. Rossheim M.E, Tillet K.K, Vasilev V. Loparco C.R, Berg C.J, Trangenstein P.J. Yochey. Sussman S.Y Siegel M. Jernigan D. Types and Brands of Derived Psychoactive Cannabis Products: An Online Retail Assessment 2023. Cannabis and Cannabinoid Research published online in 2024
85. Russo F, Vandelli M.A, Biagini G, Schmid M, Luongo L, Perrone M, Ricciardi F, Maione S, Laganà L, Capriotti A.L, Gallo A, Carbone L, Perrone E, Gigli G, Cannazza G, Citti C. Synthesis and pharmacological activity of the epimers of hexahydrocannabinol (HHC). Scientific Reports. 2023 July 8;13(1):11061.
86. Docampo-Palacios M.L, Ramirez G.A, Tesfatsion T.T, Okhovat A, Pittiglio M, Ray K.P, Cruces W. Saturated Cannabinoids: Update on Synthesis Strategies and Biological Studies of These Emerging Cannabinoid Analogs. Molecules. 2023 4;28(17):6434.
87. Jeong M, Lee S, Seo C, Kwon E, Rho S, Cho M, Kim M.Y, Lee W, Lee Y.S, Hong J. Chemical transformation of cannabidiol into psychotropic cannabinoids under acidic reaction conditions: Identification of transformed products by GC-MS. Journal of food and drug analysis. 2023.15;31(1):165-176.

88. Persson M, Kronstrand R, Brown M.E, Green H. In vitro activation of the CB1 receptor by the semi-synthetic cannabinoids hexahydrocannabinol (HHC), hexahydrocannabinol acetate (HHC-O) and hexahydrocannabiphorol (HHC-P). *Drug testing and analysis*. 2024.
89. Durydivka O, Palivec P, Gazdarica M, Mackie K, Blahos J, Kuchar M. Hexahydrocannabinol (HHC) and  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol ( $\Delta^9$ -THC) driven activation of cannabinoid receptor 1 results in biased intracellular signaling. *Scientific reports*. 2024. 22;14(1):9181
90. Nasrallah D.J, Garg N.K. Studies Pertaining to the Emerging Cannabinoid Hexahydrocannabinol (HHC). *ACS Chemical Biology*. 2023 Sep.15;18(9):2023-2029
91. Tanaka R, Hanajiri R.K. Identification of hexahydrocannabinol (HHC), dihydro-iso-tetrahydrocannabinol (dihydro-iso-THC) and hexahydrocannabiphorol (HHCP) in electronic cigarette cartridge products. *Forensic toxicology*. 2024 Jan;42(1):71-81
92. Rossheim M.E, LoParco C.R, Tillett K.K, Treffers R.D, Livingston M.D, Berg C.J. Intoxicating Cannabis Products in Vape Shops: United States, 2023. *American Journal of preventive medicine*. 2024 Jul 11:S0749-3797(24)00229-0
93. Kobidze G, Sprega G, Montanari E, Taoussi O, Bambagiotti G, Fede M.S, Di Trana A, Pichini S, Busardò F.P, Tini A, Chankvetadze B, Lo Faro A.F. The first LC-MS/MS stereoselective bioanalytical methods to quantitatively detect 9R- and 9S-hexahydrocannabinols and their metabolites in human blood, oral fluid and urine. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. 2024 Mar 15:240:115918.
94. Di Trana A, Di Giorgi A, Sprega G, Carlier J, Kobidze G, Montanari E, Taoussi O, Bambagiotti G, Fede M.S, Lo Faro A.F, Tini A, Busardò F.P, Pichini S. Disposition of Hexahydrocannabinol Epimers and Their Metabolites in Biological Matrices following a Single Administration of Smoked Hexahydrocannabinol: A Preliminary Study. *Pharmaceuticals*. 2024 Feb 15;17(2):249.
95. Kronstrand R, Roman M, Green H, Truver M.T. Quantitation of hexahydrocannabinol (HHC) and metabolites in blood from DUID cases. *Journal of analytical toxicology*. 2024 May 20;48(4):235-24.
96. Pettersson P.P, Oxelbark J. LC-MS/MS analysis of 11-nor-9-carboxy-hexahydrocannabinol (HHC-COOH) and 11-hydroxy-hexahydrocannabinol (HHC-OH)

for verification of hexahydrocannabinol (HHC) intake. *Scandinavian journal of clinical and laboratory and investigation*. 2024 Apr;84(2):109-114

97. Bottinelli C, Baradian P, Poly A, Hoizey G, Chatenay C. Identification and quantification of both isomers of hexahydrocannabinol, (9R)-hexahydrocannabinol and (9S)-hexahydrocannabinol, in three different matrices by mass spectrometry. *Rapid communications in mass spectrometry*. 2024 Apr 15;38(7):e9711.

98. Schirmer W, Auwärter V, Kaudewitz J, Schürch S, Weinmann W. Identification of human hexahydrocannabinol metabolites in urine. *European journal of mass spectrometry*. 2023 Oct;29(5-6):326-337

99. Höfert L, Becker S, Dreßler J, Baumann S. Quantification of (9R)- and (9S)-hexahydrocannabinol (HHC) via GC-MS in serum/plasma samples from drivers suspected of cannabis consumption and immunological detection of HHC and related substances in serum, urine, and saliva. *Drug testing and analysis*. 2024 May;16(5):489-497.

100. Pitterl F, Pavlic M, Liu J, Oberacher H. Insights into the human metabolism of hexahydrocannabinol by non-targeted liquid chromatography-high-resolution tandem mass spectrometry. *Journal of analytical toxicology*. 2024 Jun 11;48(5):350-358.

101. Lindbom K, Norman C, Baginski S, Krebs L, Stalberga D, Rautio T, Wu X, Kronstrand R, Gréen H. Human metabolism of the semi-synthetic cannabinoids hexahydrocannabinol, hexahydrocannabiphorol and their acetates using hepatocytes and urine samples. *Drug testing and analysis*. 2024 May 28.

102. Manier S.K, Valdiviezo J.A, Vollmer A.C, Eckstein N, Meyer M.R. Analytical toxicology of the semi-synthetic cannabinoid hexahydrocannabinol studied in human samples, pooled human liver S9 fraction, rat samples and drug products using HPLC-HRMS-MS. *Journal of analytical toxicology*. 2023 Dec 12;47(9):818-825.

## **RINGRAZIAMENTI**

Il mio ringraziamento va in primis ai miei genitori che mi hanno sempre sostenuto in questo lungo percorso, dandomi la forza per non mollare mai. Ringrazio, inoltre, Gregorio che mi è stato sempre vicino, soprattutto nell'ultimo periodo particolarmente intenso. Infine, ringrazio mia nonna che da lassù mi ha sempre guidato in questo lungo cammino.

