



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE
FACOLTÀ DI MEDICINA E CHIRURGIA

Corso di Laurea Magistrale in Medicina e Chirurgia

**PROFILI FARMACOCINETICI, TOSSICOLOGICI E CLINICI DI UN
DERIVATO SEMISINTETICO DELLA CANNABIS,
L'ESAIDROCANNABINOLO (HHC):
STUDIO SPERIMENTALE IN VOLONTARI SANI**

**PHARMACOKINETIC, TOXICOLOGICAL AND CLINICAL PROFILES
OF A SEMISYNTHETIC CANNABIS DERIVATIVE,
HEXAHYDROCANNABINOL (HHC):
AN EXPERIMENTAL STUDY IN HEALTHY VOLUNTEERS**

Relatore: Chiar.mo

Prof. Francesco Paolo Busardò

Tesi di Laurea di:

Marea Graciotti

Correlatore: Chiar.ma

Dott.ssa Giulia Bambagiotti

A.A. 2025/2026

INDICE

ABSTRACT

INTRODUZIONE

1.1. Premessa e rationale dello studio	pg. 1
1.2. Attualità scientifica e rilevanza clinico-tossicologica dei cannabinoidi	pg. 3
1.3. I cannabinoidi	pg. 6
1.3.1. Cenni storici e classificazione dei cannabinoidi	pg. 7
1.3.2. Il sistema endocannabinoide: recettori, ligandi endogeni e funzioni fisiologiche	pg. 9
1.3.3. Cannabinoidi naturali, semisintetici e sintetici: caratteristiche generali	pg. 13
1.3.4. Farmacodinamica e farmacocinetica dei principali cannabinoidi	pg. 15
1.3.5. Effetti clinici, neuropsichici e sistemici	pg. 16
1.3.6. Tossicità acuta e cronica dei cannabinoidi	pg. 18
1.3.7. Impiego clinico dei cannabinoidi e principali indicazioni terapeutiche	pg. 19
1.3.8. Preparazioni farmaceutiche e galeniche di cannabis medicinale (FM1 e FM2)	pg. 20
1.3.9. Inquadramento normativo nazionale e internazionale	pg. 21
1.4. L'esaidrocannabinolo (HHC)	pg. 22
1.4.1. HHC: struttura chimica, sintesi e stereoisomeria	pg. 22
1.4.2. Proprietà farmacodinamiche e farmacocinetiche	pg. 23
1.4.3. Effetti clinici e tossicologici descritti in letteratura	pg. 24
1.4.4. HHC e derivati correlati: HHC-O, HHC-P e altri composti emergenti	pg. 25
1.4.5. Diffusione sul mercato e modalità di assunzione	pg. 26
1.4.6. Metodi analitici per l'identificazione dell'HHC in matrici biologiche	pg. 27
1.4.7. Profili regolatori e stato giuridico dell'HHC	pg. 29

OBIETTIVO DELLA TESI pg. 32

MATERIALI E METODI pg. 34

3.1. Descrizione dello studio	pg. 34
3.2. Criteri di inclusione ed esclusione	pg. 34
3.3. Caratteristiche della popolazione in studio	pg. 35
3.4. Modalità di somministrazione, raccolta dei campioni biologici e protocollo sperimentale	pg. 35
3.5. Raccolta delle matrici biologiche	pg. 36
3.6. Metodiche analitiche di laboratorio e parametri farmacocinetici valutati	pg. 36
3.7. Parametri clinici e monitoraggio degli effetti	pg. 37

RISULTATI	pg. 39
4.1. Caratteristiche del campione	pg. 39
4.2. Risultati farmacocinetici	pg. 39
4.2.1. Risultati da campioni ematici	pg. 40
4.2.2. Risultati da campioni di fluido orale	pg. 42
4.2.3. Risultati da campioni urinari	pg. 45
4.3. Risultati tossicologico-analitici	pg. 50
4.4. Risultati clinici	pg. 53
4.5. Eventi avversi e profilo di sicurezza	pg. 59
 DISCUSSIONE	 pg. 61
5.1. Interpretazione complessiva dei risultati	pg. 61
5.2. Confronto con i dati presenti in letteratura	pg. 64
5.3. Implicazioni medico-legali e forensi	pg. 72
5.4. Criticità metodologiche e limiti dello studio	pg. 75
5.5. Prospettive future di ricerca	pg. 77
 CONCLUSIONI	 pg. 79
6.1. Sintesi delle principali evidenze	pg. 79
6.2. Rilevanza clinica, farmacologica e tossicologica	pg. 80
6.3. Considerazioni finali	pg. 81
 BIBLIOGRAFIA	 pg. 83
 SITOGRAFIA	 pg. 91
 ALLEGATI	 pg. 92

ABSTRACT

L'esaidrocannabinolo (HHC) è un cannabinoide semisintetico di recente diffusione nel mercato delle nuove sostanze psicoattive, strutturalmente correlato al Δ^9 -tetraidrocannabinolo (Δ^9 -THC) e generalmente presente come miscela degli epimeri 9R-HHC e 9S-HHC. Nonostante la crescente disponibilità di prodotti contenenti HHC, le evidenze relative al suo profilo farmacocinetico, metabolico, tossicologico e clinico nell'uomo risultano ancora limitate.

Il presente studio sperimentale ha valutato il profilo farmacocinetico, tossicologico-analitico e clinico dell'HHC in sette volontari sani sottoposti a singola somministrazione inalatoria di 25 mg della sostanza. Campioni di sangue, fluido orale e urine sono stati raccolti fino a 48 ore dopo l'assunzione e analizzati mediante UHPLC-MS/MS, al fine di determinare in modo stereoselettivo gli epimeri 9R-HHC e 9S-HHC e i principali metaboliti. Parallelamente sono stati monitorati i principali parametri clinici e la sintomatologia riferita dai partecipanti.

I risultati hanno evidenziato un rapido assorbimento dell'HHC, con rilevabilità precoce degli epimeri nel sangue e nel fluido orale. Nei campioni ematici, le concentrazioni medie massime sono state osservate entro i primi 20 minuti dalla somministrazione, con valori superiori per il 9R-HHC rispetto al 9S-HHC. Il fluido orale ha mostrato concentrazioni elevate nelle fasi iniziali, confermandosi una matrice utile per il rilevamento precoce dell'esposizione, sebbene condizionata dalla possibile contaminazione diretta del cavo orale dopo inalazione. Le urine hanno consentito una finestra di rilevabilità più prolungata, con identificazione di metaboliti fino a 48 ore; tra questi, il 11-NOR-9R-COOH-HHC è risultato il metabolita più abbondante e persistente.

Dal punto di vista clinico, gli effetti osservati sono stati prevalentemente neurologici, cardiovascolari e neurovegetativi, comprendendo xerostomia, iperemia congiuntivale, cefalea, rallentamento dell'eloquio e motorio, alterazioni visive, variazioni pressorie e tachicardia. Nella maggior parte dei partecipanti tali manifestazioni sono state lievi e transitorie, sebbene in un soggetto si sia verificato un episodio di ipotensione severa associata

a nausea, vertigini e lipotimia, che ha comportato l'interruzione anticipata della partecipazione allo studio.

È stata inoltre osservata un'elevata variabilità interindividuale, sia nelle concentrazioni biologiche sia nella risposta clinica.

Nel complesso, i dati ottenuti contribuiscono alla caratterizzazione farmacocinetica, tossicologica e clinica dell'HHC e forniscono elementi utili per l'interpretazione dei risultati analitici in ambito clinico, forense e medico-legale.

Nonostante i limiti legati alla ridotta numerosità campionaria, alla singola dose e all'assenza di randomizzazione, i risultati indicano la necessità di un approccio prudente nei confronti dell'HHC e rendono indispensabili studi su campioni più ampi e con follow-up strutturato per definirne compiutamente il profilo di sicurezza, la variabilità individuale della risposta e le implicazioni tossicologico-forensi.

INTRODUZIONE

1.1. Premessa e razionale dello studio

La *Cannabis sativa* rappresenta una delle piante psicoattive di più antica diffusione nella storia dell'umanità. Il suo impiego a fini rituali, terapeutici e ricreativi è documentato da millenni in culture geograficamente distanti tra loro. Negli ultimi decenni, tuttavia, l'interesse scientifico nei confronti della *Cannabis* si è progressivamente e radicalmente modificato, passando dalla mera caratterizzazione dei suoi principali costituenti chimici, alla comprensione dei meccanismi biologici attraverso i quali i cannabinoidi esercitano i propri effetti sull'organismo.

Un passaggio fondamentale di questo percorso è costituito dalla scoperta del sistema endocannabinoide, avvenuta a partire dagli anni Novanta con l'identificazione dei recettori cannabinoidi CB1 e CB2 e dei loro principali ligandi endogeni, anandamide e 2-arachidonoilglicerolo (2-AG) [Devane WA, 1992; Mechoulam R, 2013]. Tale sistema di segnalazione lipidica, distribuito sia a livello del sistema nervoso centrale che in quello periferico, oltre che negli organi immunocompetenti, partecipa alla modulazione di numerose funzioni biologiche fondamentali, quali percezione del dolore, memoria, appetito, risposta infiammatoria, tono dell'umore, neuroprotezione e regolazione metabolica [Zou S, 2018]. La rilevanza biologica del sistema endocannabinoide ha stimolato lo sviluppo di un crescente interesse verso sostanze in grado di modularne l'attività sia in ambito terapeutico che tossicologico.

In questo contesto si collocano i cannabinoidi ad uso medico, oggi impiegati nel trattamento di specifiche condizioni patologiche quali dolore cronico neuropatico, spasticità correlata a sclerosi multipla, nausea e vomito indotti da chemioterapia e alcune forme di epilessia farmaco-resistente. In Italia, l'uso clinico delle preparazioni a base di cannabis è stato regolamentato dal Decreto Ministeriale del 9 novembre 2015, che ha previsto l'impiego di formulazioni magistrali, tra cui le preparazioni FM1 e FM2 prodotte dallo Stabilimento Chimico Farmaceutico Militare di Firenze, contenenti concentrazioni standardizzate di Δ^9 -tetraidrocannabinolo (THC) e cannabidiolo (CBD). Permangono, tuttavia, importanti criticità relative alla variabilità farmacocinetica individuale, alla standardizzazione del dosaggio, alla

diversa composizione delle preparazioni e alla necessità di ulteriori studi sulla sicurezza a lungo termine.

Parallelamente allo sviluppo terapeutico dei cannabinoidi, il mercato delle sostanze psicoattive ha assistito alla rapida comparsa di cannabinoidi sintetici e semisintetici, spesso commercializzati come alternative legali al THC, ovvero "cannabis light", "cannabinoidi legali". Tra questi, l'esaidrocannabinolo (HHC) ha acquisito crescente interesse clinico, tossicologico e forense a partire dal 2021, anno in cui è stato segnalato per la prima volta sul mercato europeo [EMCDDA, 2023]. L'HHC è un cannabinoide semisintetico ottenuto principalmente dalla idrogenazione del CBD o del THC e presente una struttura chimica affine a quella del Δ^9 -THC. Pur condividendo con quest'ultimo alcune proprietà farmacologiche, in particolare legate all'interazione con i recettori CB1, le conoscenze relative ai suoi effetti clinici, al profilo farmacocinetico, al metabolismo *in vivo* e al potenziale tossicologico rimangono ancora limitate [Ujváry I, 2024].

La diffusione commerciale dell'HHC è avvenuta in tempi rapidi, precedendo la disponibilità di dati sperimentali sufficientemente robusti. La sostanza è comparsa nel mercato statunitense nel 2021 e successivamente è stata identificata anche nel mercato europeo, dove è stata segnalata in diversi prodotti, tra cui infiorescenze trattate, resine, oli, liquidi per sigarette elettroniche ed edibles [EMCDDA, 2023]. La variabilità delle formulazioni disponibili, la possibile presenza di impurità o sottoprodotti di sintesi e la diversa proporzione degli epimeri 9R-HHC e 9S-HHC rappresentano ulteriori elementi di incertezza nella valutazione del rischio.

Le evidenze cliniche disponibili, pur ancora limitate, descrivono effetti in parte sovrapponibili a quelli del THC, comprendenti sedazione, alterazioni percettive, ansia, tachicardia, nausea, vomito, disorientamento e, in alcuni casi, manifestazioni neuropsichiatriche acute [Labadie M, 2024]. Tali dati hanno contribuito ad aumentare l'attenzione delle autorità sanitarie e regolatorie; in Italia, con Decreto del Ministero della Salute del 13 luglio 2023, HHC, HHC-acetato e HHC-P sono stati inseriti nella Tabella I del D.P.R. 309/90, con conseguente sottoposizione a controllo come sostanze stupefacenti; misura analoga a quella adottata in precedenza da Francia, Belgio e altri Paesi europei.

In questo scenario, la tossicologia clinica e forense assumono un ruolo cardine non soltanto nella rilevazione analitica dell'HHC e dei suoi metaboliti nelle matrici biologiche, ma anche nell'interpretazione dei risultati in rapporto alla tempistica di assunzione, agli effetti clinici osservati e alle possibili implicazioni medico-legali. La disponibilità di dati sperimentali *in vivo* risulta pertanto essenziale per definire con maggiore precisione il profilo farmacocinetico, tossicologico e clinico di questa sostanza.

Il presente elaborato si propone quindi di integrare la revisione della letteratura scientifica disponibile con i dati derivanti da uno studio sperimentale condotto su volontari sani, con l'obiettivo di contribuire alla caratterizzazione dell'HHC sotto il profilo farmacocinetico, tossicologico-analitico e clinico, e di fornire elementi utili per la valutazione del rischio e per l'interpretazione dei reperti tossicologici in ambito sanitario e medico-legale.

1.2. Attualità scientifica e rilevanza clinico-tossicologica dei cannabinoidi

Negli ultimi decenni i cannabinoidi sono divenuti oggetto di crescente interesse scientifico, clinico e regolatorio. Tale incremento riflette il consolidarsi dell'interesse sia per le applicazioni terapeutiche, che per le criticità cliniche e sociali generate dalla diffusione di cannabinoidi ad elevata potenza e di nuove sostanze psicoattive.

Secondo i rapporti annuali dell'European Union Drugs Agency (EUDA, già EMCDDA), la cannabis continua a essere la sostanza stupefacente illecita più utilizzata in Europa, con stime che indicano circa 22 milioni di consumatori nell'ultimo anno nella fascia di età 15-64 anni [EUDA, 2024]. Particolarmente preoccupante appare l'abbassamento progressivo dell'età di primo utilizzo e l'aumento della prevalenza negli adolescenti e giovani adulti, fasce demografiche in cui il rischio di effetti neuropsichiatrici avversi risulta biologicamente più elevato per la maggiore plasticità e vulnerabilità del sistema nervoso in maturazione [Mashhoon Y, 2019].

La figura 1 illustra la prevalenza dell'uso di Cannabis nel 2025, nella fascia di età 15–34 anni, in tutti gli Stati Europei, condotti su sondaggi rappresentativi che includono dichiarazioni dirette dei consumatori, raccolti dall'EUDA. Lo schema visivo viene tradotto

in dati di prevalenza che sono: Totale 15,4% (15,5 milioni), Italia 21,5%, Croazia 20,3%, Spagna 19,4%, Francia 18,9%, Paesi Bassi 17,6%, Germania 17,2%

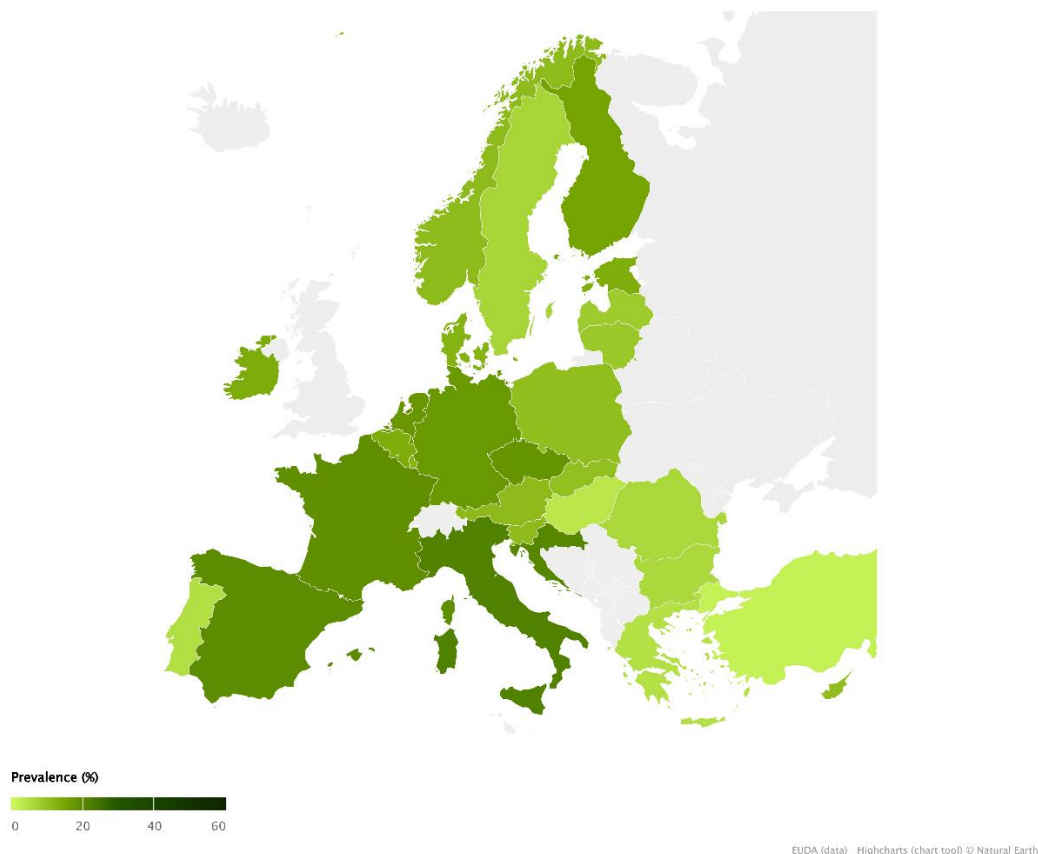


Figura 1: schema prevalenza consumo cannabinoidi in Europa nel 2025 [EUDA].

La diffusione dei prodotti a base di cannabis deve inoltre essere valutata alla luce dell'aumento della concentrazione media di Δ^9 -tetraidrocannabinolo (Δ^9 -THC) nei preparati illeciti, documentato in diversi Paesi europei tra il 2010 e il 2023. L'incremento della potenza dei prodotti contenenti THC costituisce un elemento di rilievo clinico-tossicologico, poiché può associarsi ad un rischio più elevato di intossicazione acuta, alterazioni cognitive, disturbi d'ansia, sintomi psicotici transitori e sviluppo di disturbo da uso di cannabis (*Cannabis Use Disorder, CUD*), soprattutto nei consumatori abituali o in soggetti con predisposizione genetica [Di Forti M, 2019; WHO/ECDD, 2019].

Tali aspetti assumono particolare importanza anche in ambito medico-legale, ad esempio nella valutazione dell'idoneità alla guida, dell'attività lavorativa in mansioni a rischio e dell'eventuale compromissione psicofisica correlata all'uso recente.

Accanto ai fitocannabinoidi più noti, come THC e cannabidiolo (CBD), negli ultimi anni si è assistito alla rapida comparsa di cannabinoidi sintetici e semisintetici. I cannabinoidi sintetici, spesso sviluppati per interagire con elevata affinità con i recettori CB1 e CB2, possono presentare una tossicità significativamente più marcata rispetto alla cannabis naturale, con quadri clinici anche severi, comprendenti agitazione psicomotoria, psicosi acute, convulsioni, aritmie, rabdomiolisi, insufficienza renale acuta e, in casi estremi, decesso [Tait RJ, 2016; Busardò FP, 2015].

I cannabinoidi semisintetici rappresentano una categoria eterogenea di composti ottenuti mediante modificazioni chimiche di cannabinoidi naturali, prevalentemente CBD o THC. Tra questi, l'esaidrocannabinolo (HHC), ha acquisito particolare rilevanza per la sua rapida diffusione sul mercato e per la sua iniziale commercializzazione come alternativa "legale" al THC. La presenza di prodotti non standardizzati, la variabilità nella composizione delle miscele, la possibile coesistenza di impurità o sottoprodotti di sintesi e la diversa proporzione degli epimeri 9R-HHC e 9S-HHC, di cui il primo responsabile delle proprietà psicoattive per la sua maggiore affinità verso il recettore CB1, rendono complessa la valutazione del rischio tossicologico [Durydivka O, 2024; Graziano S, 2023].

Dal punto di vista clinico, gli effetti avversi dell'HHC si sovrappongono, almeno parzialmente, a quelli del THC, pur con alcune specificità. Segnalazioni raccolte da centri antiveleni e pronto soccorso europei descrivono una prevalenza di manifestazioni cardiovascolari (tachicardia, ipertensione, dolore toracico), neurologiche (sedazione, atassia, disartria, mioclonie, convulsioni) e neuropsichiatriche (stati dissociativi, allucinazioni, episodi psicotici acuti) [Labadie M, 2024].

Alcuni studi recenti hanno inoltre evidenziato la possibilità di manifestazioni psicotiche acute associate all'uso di HHC in soggetti privi di storia psichiatrica pregressa, suggerendo la necessità di particolare cautela nei soggetti giovani, nei consumatori inesperti e nei pazienti con vulnerabilità psichiatrica. Le evidenze scientifiche suggeriscono che tale

effetto psicogeno sia mediato dall'agonismo CB1, con un meccanismo analogo a quello del Δ^9 -THC a livello del sistema dopaminergico mesolimbico.

La rilevanza tossicologico-forense dei cannabinoidi emergenti riguarda anche l'ambito analitico. L'identificazione di HHC, dei suoi epimeri e dei relativi metaboliti richiede metodiche sensibili e specifiche, quali LC-MS/MS, UHPLC-MS/MS e LC-HRMS [Kronstrand R, 2024]. I comuni test immunochimici possono non essere sufficienti per distinguere tra esposizione a THC, HHC o altri cannabinoidi strutturalmente correlati, con possibili criticità interpretative nei campioni biologici [Schirmer W, 2026; Höfert L, 2023].

Alla luce di tali elementi, lo studio dei cannabinoidi conserva un'elevata attualità scientifica. La loro rilevanza non riguarda soltanto l'ambito terapeutico, ma anche la sanità pubblica, la tossicologia clinica, la medicina legale e la normativa sugli stupefacenti. In particolare, l'HHC costituisce un esempio paradigmatico di nuova sostanza psicoattiva la cui diffusione commerciale ha preceduto la piena disponibilità di dati farmacocinetici, tossicologici e clinici, rendendo necessari studi sperimentali controllati nell'uomo [Ferretti ML, 2024; Kronstrand R, 2024].

1.3. I cannabinoidi

I cannabinoidi costituiscono un ampio gruppo di composti lipofili in grado di interagire, direttamente o indirettamente, con il sistema endocannabinoide. Essi comprendono molecole di origine vegetale, composti endogeni prodotti dall'organismo, sostanze ottenute mediante modificazione chimica di cannabinoidi naturali e molecole interamente sintetizzate in laboratorio.

Dal punto di vista farmacologico e tossicologico, i cannabinoidi presentano un'elevata eterogeneità. Alcuni composti, come il Δ^9 -tetraidrocannabinolo (Δ^9 -THC), esercitano effetti psicoattivi prevalentemente attraverso l'attivazione dei recettori cannabinoidi CB1; altri, come il cannabidiolo (CBD), presentano un profilo farmacologico più complesso e non determinano gli effetti intossicanti tipici del THC. Accanto ai fitocannabinoidi naturali, negli ultimi anni hanno assunto crescente rilevanza i cannabinoidi sintetici e semisintetici, spesso caratterizzati da profili di potenza, sicurezza e rilevanza analitica ancora non completamente definiti.

La comprensione delle caratteristiche chimiche, farmacodinamiche, farmacocinetiche e tossicologiche dei cannabinoidi rappresenta quindi un presupposto fondamentale per inquadrare correttamente l'esaidrocannabinolo (HHC), oggetto del presente elaborato, all'interno del più ampio panorama delle nuove sostanze psicoattive di tipo cannabinoidale.

1.3.1. Cenni storici e classificazione dei cannabinoidi

La *Cannabis sativa* è una pianta erbacea originaria dell'Asia centrale, la cui presenza è documentata da evidenze paleobotaniche risalenti a circa 12.000 anni fa. Nel corso della storia, la cannabis è stata utilizzata per finalità alimentari, tessili, rituali, terapeutiche e ricreative, assumendo un ruolo di rilievo nelle tradizioni mediche di numerose civiltà antiche. Documenti storici provenienti dalla medicina tradizionale cinese, egizia, greca e romana descrivono l'impiego della cannabis per il trattamento di dolore, convulsioni, cefalee, disturbi gastrointestinali e altre condizioni patologiche [Appendino G, 2020]. Nel XIX secolo, l'uso medico della cannabis si diffuse anche in Europa e in Nord America, soprattutto attraverso tinture ed estratti standardizzati, impiegati nel trattamento di nevralgie, emicrania, insonnia e spasmi muscolari [Appendino G, 2020].

Nel corso del XX secolo, tuttavia l'uso terapeutico della cannabis diminuì progressivamente, sia per la difficoltà di standardizzare i preparati vegetali, sia per l'aumento dell'uso ricreativo della sostanza con le conseguenti problematiche in materia di sanità pubblica [Di Marzo V, 2022]. Sul piano normativo, un passaggio rilevante fu rappresentato dal "Marihuana Tax Act" introdotto negli Stati Uniti nel 1937; successivamente, nel 1961 la cannabis venne inserita nella Tabella I della "Single Convention on Narcotic Drugs" delle Nazioni Unite, tra le sostanze sottoposte a controllo internazionale, sancendone il regime di stretta restrizione internazionale [Di Marzo V, 2022].

La moderna era scientifica dei cannabinoidi iniziò negli anni Sessanta con gli studi del gruppo di Raphael Mechoulam, che portarono all'isolamento e alla caratterizzazione chimica del cannabidiolo (CBD) nel 1963 e del Δ^9 -tetraidrocannabinolo (Δ^9 -THC) nel 1964 [Pertwee RG, 2008].

L'identificazione del THC come principale composto responsabile degli effetti psicoattivi della cannabis rappresentò un passaggio fondamentale per lo sviluppo della farmacologia dei cannabinoidi.

Successivamente, la scoperta dei recettori cannabinoidi (CB1 e CB2) e dei principali ligandi endogeni, quali anandamide e 2-arachidonoilglicerolo, permise di definire l'esistenza del sistema endocannabinoide, aprendo nuove prospettive nello studio dei meccanismi d'azione dei cannabinoidi e del loro possibile impiego terapeutico [Zou S, 2018].

Sotto il profilo chimico, farmacologico e tossicologico, i cannabinoidi possono essere classificati in quattro principali categorie, in base alla loro origine biosintetica e delle modalità di produzione. Tale classificazione risulta fondamentale per comprendere le differenze farmacodinamiche, tossicologiche e regolatorie che caratterizzano i diversi composti:

1. **Fitocannabinoidi**, ovvero composti terpenofenolici naturalmente presenti nella *Cannabis sativa*, prevalentemente nei tricomi ghiandolari delle infiorescenze femminili, tra cui, Δ^9 -THC, CBD, cannabigerolo (CBG), cannabichromene (CBC), tetraidrocannabivarina (THCV) e cannabidivarina (CBDV) e cannabinolo (CBN). Queste molecole sono prodotte prevalentemente nei tricomi ghiandolari delle infiorescenze femminili e sono inizialmente presenti soprattutto in forma acida, per poi essere convertite nelle forme neutre biologicamente attive mediante decarbossilazione [Ligresti A, 2016].
2. **Endocannabinoidi**, cioè molecole lipidiche endogene prodotte dall'organismo dei mammiferi, tra cui anandamide (AEA) e il 2-arachidonoilglicerolo (2-AG). Tali mediatori agiscono come modulatori endogeni del sistema endocannabinoide e partecipano alla regolazione di numerosi processi fisiologici, quali dolore, appetito, memoria, tono dell'umore e risposta immunitaria [Reggio PH, 2021].
3. **Cannabinoidi semisintetici**, derivati ottenuti mediante modificazioni chimiche di cannabinoidi naturali, in particolare THC e CBD, recentemente emersi nel mercato delle Nuove Sostanze Psicoattive (NPS), come l'esaidrocannabinolo (HHC), l'HHC-acetato (HHC-O) e l'esaidrocannabiforolo (HHC-P) e altri derivati emergenti. Tali sostanze rappresentano un comparto emergente del mercato illecito e grigio, attualmente oggetto di

crescente monitoraggio tossicologico e restrizioni regolatorie [United Nations Office on Drugs and Crime, 2023].

4. **Cannabinoidi sintetici**, cioè molecole prodotte interamente per sintesi chimica di laboratorio, sviluppate inizialmente per finalità di ricerca farmacologica e successivamente comparse anche nel mercato illecito delle nuove sostanze psicoattive. Comprendono sia farmaci approvati (es. nabilone), sia numerose Nuove Sostanze Psicoattive (NPS) come il JWH-018, l'AB-FUBINACA e il MDMB-4en-PINACA, progettate per interagire con i recettori cannabinoidi (CB1 e CB2) e spesso caratterizzate da un'elevata affinità recettoriale e da una tossicità nettamente superiore rispetto al Δ^9 -THC [Suriaga A, 2023].

Questa classificazione consente di distinguere composti con origine, meccanismi d'azione, profili tossicologici e implicazioni normative differenti. Tale distinzione è particolarmente rilevante in ambito clinico e medico-legale, poiché i cannabinoidi naturali, sintetici e semisintetici possono differire sensibilmente per potenza, durata degli effetti, rischio di eventi avversi, metabolismo e possibilità di identificazione nelle matrici biologiche.

1.3.2. Il sistema endocannabinoide: recettori, ligandi endogeni e funzioni fisiologiche

Il sistema endocannabinoide (SEC) costituisce una delle reti di segnalazione più pervasive e multifunzionali dell'organismo umano. Si tratta di un sistema di neuromodulazione lipidica a carattere ubiquitario, coinvolto nel mantenimento dell'omeostasi biologica e nella regolazione fine di numerosi processi fisiologici, dal sistema nervoso centrale agli organi periferici. Nella sua struttura essenziale, il SEC è composto da tre elementi interconnessi: i ligandi endogeni (endocannabinoidi), i recettori cannabinoidi transmembrana e gli enzimi responsabili della biosintesi e del catabolismo dei ligandi.

I principali endocannabinoidi identificati sono l'anandamide (*N*-arachidonoiletanolamina, AEA) e il 2-arachidonoilglicerolo (2-AG), entrambi derivati fosfolipidici dell'acido arachidonico [Devane WA, 1992; Mechoulam R, 1995]. Una caratteristica biologica fondamentale che distingue questi mediatori dai neurotrasmettitori classici è l'assenza di immagazzinamento presinaptico in vescicole: gli endocannabinoidi sono sintetizzati on demand a partire da precursori lipidici di membrana, in risposta alla depolarizzazione

postsinaptica e al conseguente incremento della concentrazione intracellulare di calcio (Ca^{2+}) [Castillo PE, 2012].

Il percorso biosintetico dei due ligandi è distinto. L'AEA origina principalmente per idrolisi dell'N-arachidonoil-fosfatidiletanolamina (NAPE) ad opera di una fosfolipasi specifica di tipo D (NAPE-PLD), sebbene esistano vie alternative che coinvolgono fosfolipasi C e lisofosfatasi [Okamoto Y, 2004]. Il 2-AG è invece prodotto per idrolisi del diacilglicerolo da parte delle diacilglicerolo lipasi α e β (DAGL α e DAGL β), isoenzimi espressi in modo differenziale nel cervello adulto e in sviluppo [Bisogno T, 2003]. Una volta rilasciati nello spazio intersinaptico, entrambi gli endocannabinoidi agiscono come messaggeri retrogradi: migrano in direzione retrograda attraverso la fessura sinaptica e si legano ai recettori cannabinoidi localizzati sul terminale presinaptico, modulando la conduttanza ionica e inibendo il rilascio di neurotrasmettitori sia eccitatori sia inibitori tra cui glutammato, GABA, dopamina, serotonina e noradrenalina [Freund TF, 2003; Kano M, 2009].

La cessazione del segnale avviene mediante internalizzazione cellulare (*reuptake*), mediata da un sistema di trasporto ancora non completamente caratterizzato, seguita da degradazione enzimatica intracellulare. L'AEA è idrolizzata principalmente dall'idrolasi degli amidi degli acidi grassi (FAAH), con liberazione di acido arachidonico ed etanolamina; il 2-AG è catabolizzato prevalentemente dalla monoacilglicerolo lipasi (MAGL), con produzione di acido arachidonico e glicerolo [Cravatt BF, 1996; Dinh TP, 2002]. Contributi minori alla degradazione del 2-AG sono esercitati da α,β -idrolasi 6 (ABHD6) e ABHD12, nonché, per entrambi i ligandi, dalla ciclossigenasi-2 (COX-2) con produzione di metaboliti ossigenati biologicamente attivi [Blankman JL, 2013]. Un'interpretazione funzionale di rilievo distingue i ruoli dei due ligandi principali, difatti l'AEA sembra svolgere principalmente una funzione di segnalazione tonica, regolatrice della trasmissione sinaptica basale, mentre il 2-AG rappresenta il segnale fasico attivato durante la depolarizzazione neuronale sostenuta, responsabile di numerose forme di plasticità sinaptica, almeno a livello ippocampale [Castillo PE, 2012].

Il recettore CB1 (gene *CNR1*) appartiene alla superfamiglia dei recettori accoppiati a proteina G di tipo G_i/o . La sua attivazione determina l'inibizione dell'adenilato ciclasi con

riduzione dei livelli di AMPc, l'inibizione dei canali del Ca^{2+} voltaggio-dipendenti (in particolare di tipo N e P/Q) e l'apertura di canali del K^+ (tipo GIRK), con effetto netto di iperpolarizzazione del terminale presinaptico e soppressione del rilascio di neurotrasmettitori [Howlett AC, 2002].

Il CB1 è il recettore accoppiato a proteina G più abbondantemente espresso nel cervello dei mammiferi. La sua distribuzione neuroanatomica è stata caratterizzata in dettaglio mediante autoradiografia recettoriale, ibridazione in situ e immunoistochimica: la densità recettoriale risulta particolarmente elevata nei gangli della base (globo pallido, sostanza nera, striato), nell'ippocampo, nel cervelletto, nella corteccia prefrontale e nell'amigdala [Herkenham M, 1990; Tsou K, 1998]. Dal punto di vista cellulare, il recettore è localizzato prevalentemente sui terminali presinaptici di interneuroni GABAergici contenenti colecistochinina (CCK) e, in misura minore, su terminali glutamatergici [Freund TF, 2003]. Tale distribuzione neuroanatomica fornisce la base biologica per i principali effetti comportamentali dei cannabinoidi: la modulazione della memoria e dell'apprendimento (ippocampo), delle funzioni esecutive e del controllo inibitorio (corteccia prefrontale), della coordinazione motoria (cervelletto, gangli della base), del comportamento alimentare e del reward (ipotalamo, sistema mesolimbico) [Mackie K, 2006].

Il recettore CB2 (gene *CNR2*) condivide con il CB1 l'accoppiamento alla proteina G_i/o e la conseguente inibizione dell'adenilato ciclasi, ma presenta un profilo di distribuzione radicalmente diverso. In condizioni fisiologiche basali, la sua espressione è prevalentemente periferica, concentrata nelle cellule del sistema immunitario, es. linfociti B e T, macrofagi, cellule natural killer, mastociti, e negli organi linfoidi come milza, tonsille e midollo osseo [Munro S, 1993]. L'attivazione del CB2 media effetti immunomodulatori e antinfiammatori attraverso la riduzione del rilascio di citochine pro-infiammatorie ($\text{TNF-}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$, IL-6) e di specie reattive dell'ossigeno (ROS), e attraverso la regolazione della migrazione e dell'attivazione leucocitaria [Cabral GA, 2015].

Un aspetto di crescente interesse riguarda il comportamento del CB2 a livello del sistema nervoso centrale. In condizioni basali la sua espressione nel SNC è quantitativamente esigua, ma subisce una marcata up-regulation nelle cellule microgliali e negli astrociti in risposta a stimoli neuroinfiammatori, traumi, ischemia e in corso di malattie

neurodegenerative tra cui morbo di Alzheimer, sclerosi laterale amiotrofica (SLA) e sclerosi multipla [Benito C, 2003; Fernández-Ruiz J, 2007; Lutz B, 2020]. Questa up-regulation inducibile conferisce al CB2 un ruolo potenzialmente neuroprotettivo, modulando il fenotipo microgliale in senso antinfiammatorio e riducendo il danno tessutale secondario ai processi flogistici [Young AP, 2022]. Il CB2 rappresenta pertanto un bersaglio farmacologico di particolare interesse per lo sviluppo di ligandi privi degli effetti psicoattivi CB1-mediati.

La distribuzione ubiquitaria del SEC e la sua intrinseca natura di sistema di regolazione retrograda spiegano il coinvolgimento in un ampio spettro di processi fisiologici. I principali dei quali sono di seguito descritti.

Nocicezione: Il SEC svolge un ruolo modulatorio di primo piano nelle vie afferenti del dolore, sia a livello spinale che sovraspinale. L'attivazione dei recettori CB1 sui neuroni afferenti primari e nelle corna dorsali del midollo spinale riduce la trasmissione nocicettiva, mentre l'attivazione del CB2 sui mastociti e sui macrofagi perilesionali attenua la componente infiammatoria del dolore. Il SEC partecipa anche al controllo centrale dei circuiti del dolore cronico e neuropatico, con rilevanti implicazioni per la terapia analgesica [Woodhams SG, 2015].

Metabolismo energetico: Il SEC esercita una regolazione centrale e periferica del bilancio energetico, dell'appetito e dell'omeostasi metabolica. A livello ipotalamico, l'attivazione del CB1 stimola il comportamento alimentare e aumenta il senso di palatabilità, in parte attraverso l'interazione con circuiti oreogenici e con il sistema delle endorfine [Di Marzo V, 2005]. A livello periferico, il SEC regola il metabolismo glucidico e lipidico nel tessuto adiposo, nel fegato e nel muscolo scheletrico, con un ruolo fisiopatologico documentato nella sindrome metabolica e nell'obesità [Cristino L, 2020].

Funzioni neuropsichiche: Il SEC partecipa alla modulazione del tono dell'umore, dei processi ansiosi e dei meccanismi di ricompensa (*reward*). L'anandamide, in particolare, è stata identificata come un mediatore del cosiddetto «bliss», ovvero la sensazione di benessere associata all'esercizio fisico, e come modulatore dei circuiti dopaminergici mesolimbici. Alterazioni del SEC sono state implicate nella patofisiologia di depressione, disturbi d'ansia e dipendenza da sostanze [Lutz B, 2020; Hillard CJ, 2020].

Neuroplasticità: Una delle funzioni biologiche meglio caratterizzate del SEC è la modulazione della plasticità sinaptica. Gli endocannabinoidi mediano forme di depressione sinaptica a breve termine (DSI, DSE) e a lungo termine (eCB-LTD), ritenute substrato cellulare di processi di apprendimento e memoria [Castillo PE, 2012]. Il 2-AG è considerato il principale mediatore delle forme CB1-dipendenti di LTD, in particolare a livello ippocampale, striatale e nella corteccia prefrontale. Il SEC partecipa inoltre all'attivazione di pathway citoprotettivi, tra cui la via PI3K/Akt/mTOR, con effetti neurotrofici e antiapoptotici rilevanti nei contesti di insulto cerebrale [Fernández-Ruiz J, 2007].

Immunomodulazione: Attraverso il legame con il CB2, il SEC esercita un controllo dell'attivazione immunitaria, sia innata sia adattativa, riducendo la produzione di citochine pro-infiammatorie, inibendo la chemiotassi leucocitaria e promuovendo la risoluzione dei processi flogistici [Cabral GA, 2015; Young AP, 2022]. La possibilità di modulare selettivamente il CB2 senza interferire con i circuiti CB1 centrali rappresenta una delle strategie farmacologiche più esplorate per lo sviluppo di antinfiammatori e immunosoppressori di nuova generazione.

1.3.3. Cannabinoidi naturali, semisintetici e sintetici: caratteristiche generali

I cannabinoidi costituiscono un gruppo eterogeneo di composti lipofili in grado di interagire, direttamente o indirettamente, con il sistema endocannabinoide. Sulla base dell'origine e della modalità di produzione, essi possono essere distinti in fitocannabinoidi naturali, cannabinoidi semisintetici, cannabinoidi sintetici ed endocannabinoidi.

I fitocannabinoidi sono molecole naturalmente prodotte dalla *Cannabis sativa*, prevalentemente nei tricomi ghiandolari delle infiorescenze femminili. La pianta produce oltre 560 composti differenti, tra cui terpeni, flavonoidi e cannabinoidi [Bautista J, 2021]. Tra i principali si riconoscono Δ^9 -THC, CBD, cannabinolo (CBN), cannabigerolo (CBG), cannabichromene (CBC), tetraidrocannabinivarina (THCV) e cannabidivarina (CBDV). Il Δ^9 -THC rappresenta il principale composto psicoattivo della cannabis e agisce come agonista parziale dei recettori CB1 e CB2; esso induce euforia, rilassamento, alterazioni percettive (il cosiddetto “high” ricercato dai consumatori), e a dosi elevate o in soggetti vulnerabili anche sintomi ansioso-psicotici [Pertwee RG, 2008]. Il CBD, al contrario, non produce effetti

intossicanti tipici e presenta un profilo farmacologico complesso, comprendente modulazione indiretta del SEC, interazione con recettori serotoninergici, TRPV1 e inibizione dell'enzima FAAH.

I cannabinoidi semisintetici derivano dalla modificazione chimica di fitocannabinoidi naturali, soprattutto CBD estratto da canapa industriale a basso contenuto di THC. In questa categoria rientrano HHC (con varianti chimiche HHC-C8 e HHC-C9), HHC-O, HHC-P, H4-CBD, HHC-H e altri composti emergenti. La loro rilevanza tossicologica è aumentata rapidamente poiché tali molecole sono state commercializzate come alternative legali o pseudo-legali al THC.

I cannabinoidi sintetici, definiti anche “Synthetic Cannabinoid Receptor Agonists” (SCRAs), sono invece molecole interamente progettate in laboratorio. Alcune sono nate come strumenti di ricerca farmacologica, mentre altre sono state prodotte per il mercato illecito delle nuove sostanze psicoattive. A differenza del THC, molti SCRAs agiscono come agonisti completi dei recettori CB1 e CB2, con potenza 10–100 volte superiore e tossicità significativamente maggiore rispetto alla cannabis naturale [Zagzoog A, 2021]. Tale caratteristica spiega la maggiore frequenza di quadri clinici severi, quali agitazione psicomotoria, psicosi acute, convulsioni, coma, tachiaritmie, rabdomiolisi, insufficienza renale acuta e morte improvvisa.

I recettori CB1 e CB2 svolgono un ruolo cruciale nella regolazione cardiovascolare e sono implicati nella patogenesi della cardiotoxicità indotta sia da cannabinoidi sintetici sia da altri farmaci (antipsicotici, antineoplastici); in tale contesto è stata descritta una relazione "yin-yang" tra i recettori CB1 e CB2 [Bo Y, 2024].

Dal punto di vista medico-legale, la distinzione tra cannabinoidi naturali, semisintetici e sintetici è essenziale, poiché ciascuna classe presenta differenti implicazioni cliniche, tossicologiche, analitiche e normative. I fitocannabinoidi sono generalmente rilevati attraverso metodiche consolidate e metaboliti noti; i semisintetici pongono problemi di stereoisomeria e metaboliti ancora incompletamente caratterizzati; i sintetici, infine, richiedono spesso tecniche di spettrometria di massa ad alta risoluzione e continuo aggiornamento dei pannelli analitici.

1.3.4. Farmacodinamica e farmacocinetica dei principali cannabinoidi

I cannabinoidi presentano proprietà farmacodinamiche e farmacocinetiche complesse, fortemente condizionate dalla via di somministrazione, dalla formulazione, dalla dose, dal rapporto THC/CBD, dalla presenza di metaboliti attivi e dalle caratteristiche individuali del soggetto [Grotenhermen F, 2003; Lucas CJ, 2018].

Il Δ^9 -THC, principale composto psicoattivo della cannabis, è un agonista parziale dei recettori CB1 e CB2 [Pertwee RG, 2008]. L'attivazione dei recettori CB1 nel sistema nervoso centrale determina effetti psicoattivi, alterazioni cognitive, analgesia, sedazione, aumento dell'appetito e modulazione dei circuiti della gratificazione [Grotenhermen F, 2003]. Dopo assunzione inalatoria, il THC viene rapidamente assorbito attraverso l'epitelio alveolare e raggiunge il picco plasmatico entro pochi minuti [Huestis MA, 2007]. La biodisponibilità inalatoria è variabile, generalmente compresa tra il 10% e il 35%, ed è influenzata dalla profondità dell'inspirazione, dalla durata dell'apnea inspiratoria, dalla frequenza delle inalazioni e dalla tecnica di consumo [Huestis MA, 2007; Lucas CJ, 2018].

La somministrazione orale presenta una biodisponibilità inferiore, generalmente stimata tra il 5% e il 20%, a causa dell'effetto di primo passaggio epatico [Grotenhermen F, 2003; Huestis MA, 2007]. Tuttavia, gli effetti risultano più tardivi e prolungati rispetto alla via inalatoria [Spindle TR, 2020]. Il THC è altamente lipofilo, attraversa rapidamente la barriera ematoencefalica e si distribuisce nei tessuti ricchi di lipidi, con accumulo nel tessuto adiposo e successivo lento rilascio [Huestis MA, 2007]. Tale caratteristica spiega la lunga persistenza dei metaboliti cannabinoidi nei fluidi biologici, soprattutto nei consumatori abituali [Huestis MA, 2007].

Il metabolismo del THC avviene prevalentemente a livello epatico tramite enzimi del citocromo P450, in particolare CYP2C9, CYP2C19 e CYP3A4 [Nasrin S, 2021]. Il principale metabolita attivo è il 11-idrossi-THC (11-OH-THC), dotato di significativa attività psicotropa; il successivo metabolita, l'acido 11-nor-9-carbossi-THC (THC-COOH), è invece farmacologicamente inattivo ma rappresenta il principale marker urinario di esposizione [Spindle TR, 2020]. In ambito forense, la presenza di THC e 11-OH-THC è più indicativa di assunzione recente, mentre il THC-COOH documenta un'esposizione pregressa ma non

consente di inferire automaticamente uno stato di compromissione attuale (impairment) [Hartman & Huestis, 2013].

Il CBD condivide con il THC alcune caratteristiche farmacocinetiche, quali l'elevata lipofilia e il metabolismo epatico, ma si distingue per l'assenza di effetti intossicanti significativi [Millar SA, 2018]. È metabolizzato principalmente da CYP2C19 e CYP3A4 e può interferire con il metabolismo di diversi farmaci, inclusi antiepilettici, anticoagulanti, antidepressivi e chemioterapici [Nasrin S, 2021]. Dal punto di vista farmacodinamico, il CBD possiede azioni anticonvulsivanti, ansiolitiche, antinfiammatorie e neuroprotettive, ma il suo meccanismo d'azione non è riconducibile a un semplice agonismo diretto dei recettori CB1/CB2 [Pertwee RG, 2008].

Per l'HHC (esaidrocannabinolo), le conoscenze farmacocinetiche nell'uomo sono ancora limitate. La sostanza è generalmente presente come miscela degli stereoisomeri 9R-HHC e 9S-HHC. I dati in vitro indicano che il 9R-HHC mostra maggiore affinità per i recettori CB1 e CB2 rispetto al 9S-HHC, con un'attività biologica più vicina a quella del THC [Casati S, 2024]. Studi sperimentali su epatociti umani e analisi tossicologiche preliminari suggeriscono un metabolismo simile a quello del THC, con formazione di metaboliti idrossilati e carbossilati rilevabili in sangue, urina e fluido orale [Graziano S, 2023; Casati S, 2024].

Dal punto di vista medico-legale, la farmacocinetica dei cannabinoidi impone cautela interpretativa: la positività tossicologica non coincide sempre con una compromissione psicofisica attuale, e la relazione tra concentrazione biologica, dose assunta ed effetti clinici è influenzata da tolleranza, via di somministrazione, uso cronico, composizione del prodotto e variabilità metabolica individuale [Hartman & Huestis, 2013; Busardò FP, 2017].

1.3.5. Effetti clinici, neuropsichici e sistemici

Gli effetti clinici dei cannabinoidi sono eterogenei e dipendono da sostanza, dose, via di somministrazione, rapporto THC/CBD, esperienza del consumatore, tolleranza, età e vulnerabilità psichiatrica individuale [Grotenhermen F, 2003; Huestis MA, 2007].

Gli effetti acuti del Δ^9 -THC comprendono euforia, rilassamento, sedazione, alterazioni della percezione sensoriale e del tempo, aumento dell'appetito, oltre a deficit della memoria a

breve termine, riduzione dell'attenzione, rallentamento psicomotorio, compromissione della coordinazione e del giudizio critico. Tali aspetti sono rilevanti in ambito medico-legale per la valutazione dell'idoneità alla guida, delle mansioni a rischio e dell'uso di macchinari [Hartman & Huestis, 2013; Spindle TR, 2020].

A dosi elevate, o in soggetti vulnerabili, il THC può indurre ansia, attacchi di panico, derealizzazione, depersonalizzazione, paranoia, allucinazioni e sintomi psicotici transitori. L'uso frequente di cannabis, in particolare in adolescenza e giovane età, è associato a un aumento del rischio di disturbi psicotici e a un possibile peggioramento del decorso di patologie psichiatriche preesistenti [Di Forti M, 2019; Murray RM, 2017].

Sul piano cognitivo, l'esposizione acuta compromette memoria, attenzione, apprendimento, controllo inibitorio e capacità decisionale; l'uso cronico e intenso può associarsi a deficit più persistenti, con entità e reversibilità variabili in funzione dell'età di inizio, della durata e frequenza d'uso e della potenza dei prodotti [Meier MH, 2012; Broyd SJ, 2016].

Gli effetti cardiovascolari includono tachicardia, vasodilatazione periferica, ipotensione ortostatica e palpitazioni, con incremento del consumo miocardico di ossigeno; nei soggetti con cardiopatie preesistenti questi effetti possono avere maggiore rilevanza clinica. Le revisioni recenti suggeriscono prudenza nell'attribuire un nesso causale diretto tra cannabis ed eventi cardiovascolari maggiori, pur raccomandando cautela nei pazienti fragili o cardiopatici [Thomas G, 2014; Ravi D, 2018; Menahem S. & Busardò FP, 2020].

A livello gastrointestinale, oltre all'impiego antiemetico di alcuni cannabinoidi, è descritta la sindrome da iperemesi cannabinoide (CHS), caratterizzata da episodi ricorrenti di nausea e vomito incoercibile nei consumatori cronici, spesso con accessi ripetuti in pronto soccorso e difficoltà diagnostiche [Simonetto DA, 2012; Sorensen CJ, 2017].

Il CBD presenta un profilo clinico distinto: non produce intossicazione tipica, mostra attività anticonvulsivante ed è impiegato come trattamento aggiuntivo in alcune epilessie farmaco-resistenti; può però causare sonnolenza, diarrea, riduzione dell'appetito, alterazioni epatiche e interazioni farmacologiche clinicamente rilevanti [Devinsky O, 2017; Millar SA, 2018].

I cannabinoidi sintetici e semisintetici mostrano spesso un profilo clinico meno prevedibile rispetto alla cannabis naturale. Per l’HHC sono stati riportati sedazione, vertigini, ansia, tachicardia, alterazioni cognitive, nausea, vomito, disorientamento, sintomi dissociativi e psicosi acute; i cannabinoidi sintetici agonisti completi dei recettori CB1/CB2 sono invece associati a quadri più severi, tra cui convulsioni, coma, agitazione psicomotoria, aritmie, rabdomiolisi, danno renale acuto e morte improvvisa [Tait RJ, 2016; Castellanos D & Thornton G 2012; Casati S, 2024; Busardò FP, 2015].

1.3.6. Tossicità acuta e cronica dei cannabinoidi

La tossicità dei cannabinoidi può essere distinta in tossicità acuta e cronica.

La tossicità acuta è più frequentemente correlata a THC ad alte dosi, prodotti ad elevata potenza, *edibles*, cannabinoidi sintetici o semisintetici e coassunzione di alcol o altre sostanze psicoattive.

Sul sistema nervoso centrale, l’intossicazione acuta da THC può determinare sonnolenza, atassia, rallentamento psicomotorio, deficit attentivi, alterazioni percettive, ansia, panico, agitazione, paranoia e, nei casi più gravi, psicosi tossica. Nei bambini, l’ingestione accidentale di prodotti commestibili a base di cannabinoidi può determinare depressione dello stato di coscienza, ipotonia, vomito e necessità di osservazione ospedaliera.

Sul piano cardiovascolare, la cannabis può provocare tachicardia, ipotensione ortostatica e palpitazioni. In soggetti predisposti sono stati descritti eventi più gravi, quali aritmie, ischemia miocardica e incidenti cerebrovascolari, sebbene il ruolo causale diretto della cannabis rimanga talora difficile da definire per la frequente presenza di fattori confondenti, come tabagismo, uso di altre sostanze e comorbidità [Page R, 2020].

Gli effetti respiratori sono legati soprattutto alla via inalatoria e alla combustione. Il fumo di cannabis contiene catrame e sostanze irritanti, con possibile bronchite cronica, tosse persistente, ipersecrezione bronchiale e infiammazione delle vie aeree. Il vaping di oli o liquidi contenenti cannabinoidi introduce ulteriori criticità, legate alla presenza di additivi, solventi e contaminanti [Khoj L, 2024].

A livello gastrointestinale, l’uso cronico può determinare sindrome da iperemesi cannabinoidi, caratterizzata da nausea ricorrente, vomito severo, dolore addominale e

solievo temporaneo con docce o bagni caldi. La diagnosi è spesso ritardata, soprattutto in assenza di anamnesi tossicologica accurata. [Pergolizzi J, 2018].

Dal punto di vista riproduttivo e dello sviluppo, il THC attraversa la placenta e può essere trasferito nel latte materno. L'esposizione prenatale è stata associata a possibili alterazioni dello sviluppo neurocognitivo, riduzione dell'attenzione, impulsività e difficoltà comportamentali. Per tale motivo, l'uso di cannabis in gravidanza e allattamento deve essere considerato controindicato o comunque fortemente sconsigliato [Joseph P, 2020].

La tossicità cronica comprende il rischio di tolleranza, dipendenza e disturbo da uso di cannabis. La sindrome d'astinenza può manifestarsi con irritabilità, insonnia, ansia, umore depresso, riduzione dell'appetito, craving e irrequietezza. Nei consumatori frequenti di prodotti ad alto contenuto di THC, il rischio di dipendenza e compromissione psichica risulta maggiore.

I cannabinoidi sintetici presentano una tossicità qualitativamente e quantitativamente più severa rispetto alla cannabis naturale. Essendo spesso agonisti completi CB1/CB2, possono causare crisi convulsive, coma, agitazione grave, ipertermia, rabdomiolisi, insufficienza renale acuta, aritmie, sindrome serotoninergica-like e decesso [Riederer AM, 2016]. La loro identificazione richiede metodiche analitiche avanzate, poiché i comuni test immunochimici urinari per THC non sono affidabili per rilevare tali molecole.

1.3.7. Impiego clinico dei cannabinoidi e principali indicazioni terapeutiche

L'impiego clinico dei cannabinoidi si colloca in un ambito terapeutico complesso, nel quale alcune indicazioni dispongono di evidenze relativamente solide, mentre altre rimangono supportate da dati limitati o eterogenei [Brunetti P, 2020]. La letteratura più recente suggerisce che i benefici terapeutici siano circoscritti a un numero definito di condizioni cliniche, mentre per molte altre patologie le prove disponibili non sono sufficienti per formulare raccomandazioni robuste.

Il CBD presenta l'evidenza clinica più solida nell'epilessia farmaco-resistente, in particolare nelle sindromi di Dravet, Lennox-Gastaut e nella sclerosi tuberosa complessa, dove viene utilizzato come terapia aggiuntiva [Lattanzi S, 2021]. In questo contesto, l'efficacia è documentata da studi randomizzati controllati, sebbene sia necessario

monitorare eventi avversi e interazioni farmacologiche, soprattutto con antiepilettici metabolizzati a livello epatico.

Il THC e le combinazioni THC/CBD trovano impiego nella spasticità da sclerosi multipla, soprattutto in pazienti non responsivi alle terapie convenzionali. Il beneficio appare più evidente sulla spasticità percepita dal paziente e sulla qualità di vita, mentre gli outcome oggettivi risultano più variabili [Cafaro A, 2025].

Nel dolore cronico, in particolare neuropatico, i cannabinoidi possono determinare un beneficio analgesico modesto. Le revisioni sistematiche sottolineano tuttavia l'eterogeneità degli studi, la variabilità delle formulazioni e la frequenza di eventi avversi quali sonnolenza, vertigini, confusione e alterazioni cognitive.

Nel trattamento di nausea e vomito indotti da chemioterapia, dronabinol e nabilone rappresentano analoghi sintetici del THC approvati in specifici contesti, soprattutto quando le terapie antiemetiche convenzionali risultano insufficienti. Anche in questo caso, l'efficacia deve essere bilanciata con il rischio di effetti psicoattivi.

Altre indicazioni, come disturbi d'ansia, depressione, malattie neurodegenerative, infiammazioni croniche intestinali, glaucoma e sindrome di Tourette, presentano evidenze più limitate, spesso basate su studi piccoli, eterogenei o non conclusivi.

Dal punto di vista medico-legale, la prescrizione di cannabinoidi impone un'attenta valutazione del rapporto rischio/beneficio, una corretta documentazione dell'indicazione clinica, l'acquisizione di consenso informato specifico e la comunicazione dei possibili effetti su guida, lavoro, vigilanza, interazioni farmacologiche e rischio di abuso.

1.3.8. Preparazioni farmaceutiche e galeniche di cannabis medicinale (FM1 e FM2)

In Italia, le preparazioni farmaceutiche e galeniche di cannabis medicinale sono disciplinate dal Decreto Ministeriale del 9 novembre 2015 e vengono allestite su prescrizione medica. Le due principali varietà prodotte dallo Stabilimento Chimico Farmaceutico Militare di Firenze sono FM1 e FM2.

La FM1 presenta un contenuto elevato di THC, generalmente compreso tra il 13% e il 20%, e un contenuto di CBD inferiore all'1%. È quindi una preparazione a prevalenza THC, potenzialmente indicata in condizioni nelle quali si ricerca un effetto analgesico,

antispastico o stimolante dell'appetito, ma richiede particolare cautela per il maggiore rischio di effetti psicoattivi.

La FM2 presenta invece un rapporto più bilanciato tra THC e CBD, con THC generalmente compreso tra il 5% e l'8% e CBD tra il 7,5% e il 12%. Tale composizione può consentire una maggiore modulazione degli effetti psicoattivi del THC grazie alla presenza del CBD.

Le preparazioni galeniche possono essere somministrate sotto forma di decozioni, estratti oleosi o, in specifici contesti, mediante vaporizzazione. Le preparazioni acquose presentano recupero dei cannabinoidi variabile e generalmente inferiore rispetto agli estratti oleosi, poiché THC e CBD sono molecole lipofile. Gli estratti oleosi permettono una maggiore concentrazione e stabilità dei principi attivi, ma richiedono procedure di preparazione e titolazione accurate.

La prescrizione deve indicare varietà, quantità, modalità di preparazione, posologia e durata del trattamento. Dal punto di vista medico-legale, è essenziale che il medico documenti l'indicazione terapeutica, l'insufficiente risposta ai trattamenti convenzionali, il bilancio rischio/beneficio, l'informazione fornita al paziente e le indicazioni relative a guida, lavoro e possibili effetti avversi.

1.3.9. Inquadramento normativo nazionale e internazionale

L'inquadramento normativo della cannabis e dei cannabinoidi si è evoluto nel tempo in rapporto al mutamento della percezione scientifica, clinica e sociale della sostanza.

A livello internazionale, la Convenzione Unica sugli Stupefacenti del 1961 ha incluso cannabis, resina, estratti e tinture tra le sostanze sottoposte a controllo, limitandone l'uso a finalità mediche e scientifiche. La Convenzione sulle sostanze psicotrope del 1971 ha ulteriormente disciplinato il controllo internazionale dei composti psicoattivi, incluso il THC.

In Italia, la disciplina delle sostanze stupefacenti è oggi contenuta nel D.P.R. 309/90 (Tabella I), che stabilisce controlli, divieti e sanzioni relative alla produzione, detenzione, prescrizione, distribuzione e impiego di sostanze stupefacenti e psicotrope. L'uso medico della cannabis è stato regolamentato dal Decreto Ministeriale del 9 novembre 2015, che ha

attribuito allo Stabilimento Chimico Farmaceutico Militare di Firenze la produzione nazionale di cannabis medicinale e ha definito le condizioni di impiego terapeutico.

La Legge 242/2016 ha disciplinato la coltivazione e la filiera agroindustriale della canapa, fissando limiti relativi al contenuto di THC. Tuttavia, la diffusione di derivati semisintetici ottenuti dal CBD ha evidenziato la difficoltà di adattare tempestivamente il quadro normativo alla rapida evoluzione chimica del mercato.

Il caso dell'HHC è emblematico. La sostanza è stata commercializzata in diversi Paesi europei come alternativa al THC, sfruttando una temporanea assenza di specifica tabellazione. In Italia, invece, il Decreto Ministeriale del 13 luglio 2023, entrato in vigore il 28 luglio 2023, ha disposto l'inserimento di HHC, HHC-acetato e HHC-P nella Tabella I del D.P.R. 309/90, rendendone illecita produzione, vendita, detenzione e consumo al di fuori degli ambiti consentiti dalla legge.

Dal punto di vista medico-legale, tale evoluzione dimostra la necessità di un aggiornamento continuo delle tabelle ministeriali, delle metodiche analitiche e dei criteri interpretativi, poiché la sintesi di nuovi analoghi cannabinoidi può rapidamente superare la capacità regolatoria dei sistemi normativi tradizionali.

1.4. L'esaidrocannabinolo (HHC): profilo chimico, farmacologico e tossicologico

1.4.1. HHC: struttura chimica, sintesi e stereoisomeria

L'esaidrocannabinolo è un cannabinoide semisintetico derivato principalmente dall'idrogenazione del Δ^9 -THC o dalla conversione chimica del CBD. Dal punto di vista strutturale, l'HHC differisce dal THC per la saturazione del doppio legame presente nell'anello cicloesenico, caratteristica che determina la formazione di stereoisomeri differenti, principalmente 9R-HHC e 9S-HHC.

La stereochimica dell'HHC riveste particolare importanza farmacologica e tossicologica, poiché i due epimeri mostrano diversa affinità recettoriale e differente attività biologica. Studi recenti suggeriscono che il 9R-HHC possieda maggiore attività agonista sui recettori CB1 rispetto al 9S-HHC [Chen PP, 2025]. La Figura 2 illustra le differenze stereochemiche dei due isomeri di HHC.

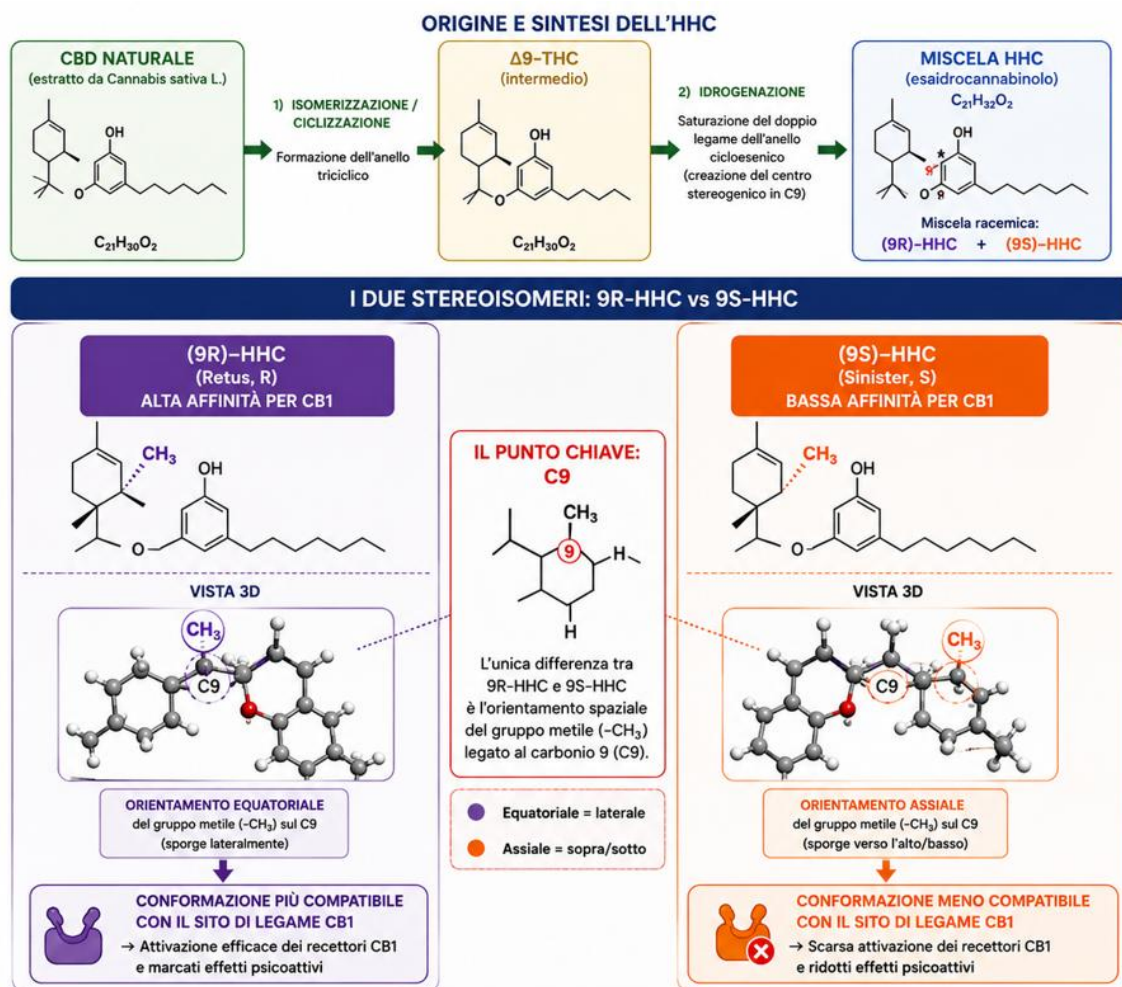


Figura 2: Illustrazione conformazione chimica HHC.

1.4.2. Proprietà farmacodinamiche e farmacocinetiche

L'HHC presenta proprietà farmacodinamiche sovrapponibili in parte a quelle del Δ^9 -THC, ma la sua attività biologica dipende in modo rilevante dalla composizione stereoisomerica. La miscela commerciale contiene prevalentemente i due epimeri 9R-HHC e 9S-HHC. Studi *in vitro* indicano che il 9R-HHC possiede maggiore affinità e attività sui recettori CB1 e CB2, mentre il 9S-HHC presenta attività recettoriale inferiore [Nasrallah DJ, 2023].

Questa differenza è di grande rilievo clinico e tossicologico, poiché prodotti contenenti proporzioni diverse di 9R-HHC e 9S-HHC possono determinare effetti

farmacologici e tossici non sovrapponibili. La mancanza di standardizzazione commerciale costituisce pertanto una criticità primaria.

Dal punto di vista farmacocinetico, i dati disponibili indicano che l'HHC è lipofilo, attraversa la barriera ematoencefalica e subisce metabolismo epatico. Studi *in vitro* su epatociti umani hanno evidenziato la formazione di metaboliti idrossilati, ossidati e coniugati, alcuni dei quali possono essere utilizzati come marker di esposizione in ambito tossicologico-forense [Graziano S, 2023; Lindbom K, 2025].

La similarità metabolica con il THC suggerisce una possibile persistenza in matrici biologiche differenti, tra cui sangue, urine e fluido orale. Tuttavia, la correlazione tra concentrazione biologica, dose assunta ed effetti clinici non è ancora sufficientemente definita nell'uomo. Questa incertezza giustifica l'esigenza di studi sperimentali controllati su volontari sani, finalizzati a valutare parametri farmacocinetici, sintomatologia clinica e finestre di rilevabilità analitica.

1.4.3. Effetti clinici e tossicologici descritti in letteratura

Le evidenze cliniche sull'HHC sono ancora limitate e derivano prevalentemente da case report, segnalazioni ai centri antiveleni, studi osservazionali e documenti di allerta europei.

Gli utilizzatori descrivono effetti soggettivi simili a quelli del THC, tra cui rilassamento, euforia, sedazione, alterazione percettiva e aumento dell'appetito. Tuttavia, sono riportati anche effetti avversi significativi, quali ansia, attacchi di panico, disorientamento, derealizzazione, depersonalizzazione, tachicardia, nausea, vomito, tremori, alterazioni dello stato di coscienza e psicosi acute [Mongan D, 2025].

Uno studio retrospettivo sui casi segnalati ai centri antiveleni francesi ha evidenziato che l'esposizione ad HHC può determinare manifestazioni multisistemiche [Labadie M, 2024]. I sintomi neurologici risultano tra i più frequenti e comprendono sonnolenza, vertigini, atassia, tremori e alterazioni della coscienza. Sono frequenti anche sintomi cardiovascolari, come tachicardia e palpitazioni, sintomi gastrointestinali, tra cui nausea e vomito, e sintomi psichiatrici quali ansia, agitazione, panico e psicosi.

Una case series irlandese ha descritto episodi psicotici associati all'uso di HHC, confermando la possibilità che tale sostanza, pur commercializzata come alternativa “legale” al THC, possa indurre quadri clinici severi soprattutto in soggetti vulnerabili [O'Mahony B, 2024].

Per HHC-P e altri derivati correlati, i dati clinici sono ancora più scarsi. Tuttavia, la maggiore affinità teorica per il recettore CB1 e la commercializzazione in prodotti non standardizzati suggeriscono un potenziale tossicologico rilevante [Persson M, 2025].

Il confronto con gli SCRAAs evidenzia un aspetto centrale: i cannabinoidi sintetici completi presentano tossicità più grave rispetto ai semisintetici, ma anche HHC e derivati devono essere considerati sostanze a rischio clinico-forense, soprattutto per l'assenza di dati certi su dose, purezza, metabolismo, impairment e finestre di rilevabilità.

1.4.4. HHC e derivati correlati: HHC-O, HHC-P e altri composti emergenti

L'HHC rappresenta il capostipite di una famiglia più ampia di derivati semisintetici recentemente comparsi sul mercato. Tra i composti correlati assumono particolare rilevanza HHC-O, HHC-P, H4-CBD, HHC-H e altri analoghi strutturali [Helander A, 2024].

L'HHC-O, o HHC-acetato, è un derivato acetilato dell'HHC. La modificazione acetilica può alterare lipofilia, stabilità e, potenzialmente, biodisponibilità del composto. La letteratura clinica sull'HHC-O è ancora limitata, ma la sua inclusione nelle tabelle italiane insieme ad HHC e HHC-P riflette la preoccupazione regolatoria per molecole strutturalmente e farmacologicamente correlate.

L'HHC-P, o esaidrocannabiforolo, presenta una catena laterale più lunga rispetto all'HHC. Per analogia con il THC-P, l'allungamento della catena alchilica potrebbe aumentare l'affinità per il recettore CB1 e quindi la potenza psicoattiva. Tuttavia, mancano studi clinici controllati nell'uomo e il profilo tossicologico resta largamente indefinito.

Il THC-P, identificato come fitocannabinoidi minore ma anche prodotto e commercializzato come derivato ad elevata potenza, è caratterizzato da elevata affinità per il recettore CB1 rispetto al Δ^9 -THC. Tale caratteristica lo rende di interesse farmacologico ma anche di rilevanza tossicologica, soprattutto in prodotti commerciali non standardizzati.

L'H4-CBD e altri derivati idrogenati del CBD sono stati presentati sul mercato come prodotti alternativi non intossicanti o a bassa psicoattività, ma le informazioni cliniche disponibili sono insufficienti per definirne sicurezza e farmacologia.

Altre varianti chimiche dell'HHC che si stanno diffondendo sono l'HHC-C8 e l'HHC-C9. Queste rappresentano una modifica strutturale dell'HHC, caratterizzata da una catena laterale allungata (rispettivamente 8 e 9 atomi di carbonio invece dei 5 dell'HHC classico) che aumenta la lipofilità e l'affinità per i recettori CB1 e CB2 del sistema endocannabinoide, rendendo questi composti più potenti e con effetti più prolungati rispetto al THC e all'HHC standard.

L'aspetto comune a tutti questi composti è la marcata asimmetria tra rapidità di diffusione commerciale e lentezza della produzione di evidenze scientifiche. Da ciò derivano problemi clinici, analitici e normativi: assenza di dosaggi sicuri, insufficiente conoscenza dei metaboliti, rischio di contaminanti di sintesi, variabilità nella composizione dei prodotti e difficoltà di aggiornamento delle Tabelle delle sostanze stupefacenti.

1.4.5. Diffusione sul mercato e modalità di assunzione

La diffusione dell'HHC sul mercato europeo è stata segnalata con particolare intensità tra il 2021 e il 2023. La sostanza è stata commercializzata come alternativa al THC, spesso sfruttando la disponibilità di CBD derivato dalla canapa industriale e la temporanea assenza di specifiche restrizioni normative.

I prodotti contenenti HHC sono stati venduti in forme molto diverse: infiorescenze di canapa spruzzate con HHC, cartucce per vaporizzatori, e-liquid, oli, tinture, capsule, resine ed edibles, inclusi prodotti dolciari (Figura 3). La varietà delle modalità di assunzione comporta rilevanti differenze farmacocinetiche e tossicologiche. L'inalazione determina insorgenza rapida degli effetti e maggiore rischio di impairment acuto, mentre l'assunzione orale comporta esordio ritardato ma durata più prolungata, con aumentato rischio di sovradosaggio involontario.

La commercializzazione online, la presentazione grafica accattivante e l'etichettatura ambigua hanno favorito l'accesso di adolescenti e giovani adulti, categorie particolarmente

vulnerabili agli effetti neuropsichiatrici dei cannabinoidi. La percezione di legalità e sicurezza ha contribuito a sottostimare il rischio tossicologico.



Figura 3: esempi di prodotti disponibili in commercio contenenti HHC

Dal punto di vista di sanità pubblica, il caso HHC ha mostrato come le nuove sostanze psicoattive possano diffondersi rapidamente prima della disponibilità di dati clinici, tossicologici e normativi sufficienti. Tale fenomeno impone sistemi di allerta precoce, cooperazione tra laboratori forensi, centri antiveleni e autorità regolatorie, nonché aggiornamento continuo dei metodi analitici.

1.4.6. Metodi analitici per l'identificazione dell'HHC in matrici biologiche

L'identificazione e la quantificazione dei cannabinoidi naturali, sintetici e semisintetici rappresentano oggi una delle principali sfide della tossicologia clinica e forense. La rapida diffusione di nuove sostanze psicoattive cannabinoidi, associate a strutture chimiche estremamente simili al Δ^9 -THC, ha reso necessaria l'adozione di metodiche analitiche ad elevata sensibilità e specificità.

La cromatografia liquida accoppiata alla spettrometria di massa tandem (LC-MS/MS) è il metodo di riferimento per identificare e quantificare THC, CBD, HHC e i loro metaboliti nelle principali matrici biologiche (sangue, plasma, urine, fluido orale), grazie ad alta sensibilità, specificità e capacità multi-analita [Kobidze G, 2023, Mikhaltsevich P, 2025].

Rispetto alla gascromatografia, evita la degradazione termica dei composti e consente limiti di rilevazione molto bassi, con protocolli validati per screening e conferma forense/clinica.

L'introduzione della UHPLC-MS/MS (cromatografia liquida ultra alta prestazione accoppiata a spettrometria di massa tandem) ha ulteriormente migliorato la capacità di separazione degli isomeri cannabinoidi, consentendo una più accurata distinzione tra Δ^8 -THC, Δ^9 -THC, 9R-HHC e 9S-HHC [Manca A, 2022]. L'impiego di colonne ad alta efficienza e particelle di piccole dimensioni, migliora infatti la separazione cromatografica di composti strutturalmente simili. Tale distinzione è essenziale in ambito forense, poiché errori di identificazione possono generare falsi positivi o interpretazioni giuridicamente rilevanti.

La spettrometria di massa ad alta risoluzione (HRMS), mediante strumenti Orbitrap o QTOF, consente approcci untargeted e suspect screening, particolarmente utili per l'identificazione di nuove sostanze psicoattive e metaboliti non ancora inclusi nei pannelli analitici standard. Questo approccio è cruciale per i cannabinoidi emergenti, la cui diffusione commerciale spesso precede la disponibilità di standard certificati [Schirmer W, 2026].

La GC-MS conserva un ruolo importante nell'analisi di sequestri, infiorescenze, resine, oli e liquidi per sigarette elettroniche. Tuttavia, nelle matrici biologiche presenta limiti legati alla derivatizzazione e alla possibile conversione artefattuale di alcuni cannabinoidi, in particolare CBD in THC o Δ^8 -THC, con potenziali conseguenze interpretative.

Le matrici biologiche più utilizzate sono sangue, plasma, urine e fluido orale. Il sangue è utile per valutare l'esposizione recente e, se interpretato con cautela, l'eventuale impairment; l'urina consente una finestra di rilevabilità più lunga ma non dimostra necessariamente assunzione recente; il fluido orale è utile nei controlli su strada perché riflette meglio l'esposizione recente e consente raccolta non invasiva.

La breath analysis rappresenta una frontiera emergente per la valutazione dell'uso recente di cannabis e cannabinoidi, ma al momento non esistono cut-off universalmente accettati capaci di correlare in modo affidabile concentrazione nel respiro e compromissione psicofisica.

La tabella 1.1 riassume le metodiche menzionate indicandone le principali applicazioni.

Tabella 1.1 Metodiche analitiche per la determinazione dei cannabinoidi

Metodica	Applicazioni principali	Vantaggi	Limiti
LC-MS/MS	THC, CBD, HHC e metaboliti in sangue, plasma, urina e fluido orale	Elevata sensibilità e specificità; analisi multi-target; assenza di degradazione termica	Costi elevati; necessità di standard certificati
UHPLC-MS/MS	Separazione di isomeri Δ^8/Δ^9 -THC e 9R/9S-HHC	Elevata risoluzione; tempi analitici ridotti	Strumentazione complessa; colonne ad alta usura
LC-HRMS / QTOF / Orbitrap	Screening untargeted di cannabinoidi emergenti	Identificazione di molecole non note; massa accurata	Costi elevati; complessità interpretativa
GC-MS / GC-MS/MS	Sequestri, infiorescenze, resine, oli, e-liquid	Robustezza; librerie spettrali consolidate	Derivatizzazione; rischio di conversioni termiche artefattuali
Fluido orale + LC-MS/MS	Controlli stradali e uso recente	Campionamento non invasivo e osservabile	Possibile contaminazione orale; volume ridotto
Breath analysis	Studio dell'uso molto recente e impairment acuto	Potenziale applicazione roadside	Assenza di cut-off validati

1.4.7. Profili regolatori e stato giuridico dell'HHC

L'esaidrocannabinolo (HHC) rappresenta una delle più recenti sostanze cannabinoidi semisintetiche emerse sul mercato europeo e internazionale. La sua comparsa ha determinato numerose criticità dal punto di vista normativo e regolatorio, principalmente a causa della rapida diffusione commerciale, della limitata disponibilità di dati tossicologici e farmacologici e della difficoltà di classificazione giuridica all'interno delle normative sugli stupefacenti. Attualmente, il quadro normativo dell'HHC risulta eterogeneo e in continua

evoluzione, con differenze significative tra ordinamenti nazionali e organismi sovranazionali.

Dal punto di vista chimico, essendo l'HHC derivato idrogenato del Δ^9 -THC, tale origine semisintetica ha contribuito alla sua iniziale commercializzazione come alternativa “legale” al THC, soprattutto nei Paesi in cui la normativa si concentrava esclusivamente sul THC naturale o sui cannabinoidi esplicitamente inclusi nelle Tabelle delle sostanze controllate.

Nell'Unione Europea, l'HHC è stato oggetto di crescente attenzione da parte dell'European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction (EMCDDA), oggi denominato European Union Drugs Agency (EUDA). Nel report tecnico del 2023, l'agenzia ha segnalato la rapida diffusione dell'HHC nei mercati europei, evidenziando la presenza della sostanza in prodotti commercializzati come vape, oli, resine e infiorescenze arricchite. L'agenzia ha sottolineato come l'HHC presenti effetti psicoattivi simili al THC, pur in assenza di studi clinici completi relativi a tossicità, farmacocinetica e sicurezza a lungo termine. Inoltre, ha rilevato la presenza di sottoprodotti di sintesi e impurità potenzialmente pericolose derivanti dai processi industriali di produzione.

Nonostante tali criticità, l'HHC inizialmente non è stato inserito in modo centralizzato tra le sostanze controllate ai sensi della Decisione Quadro 2004/757/GAI del Consiglio dell'Unione Europea. Di conseguenza, l'adozione di misure urgenti o divieti è stata demandata ai singoli Stati membri, determinando un quadro legislativo frammentato. Alcuni Paesi europei hanno adottato tempestivamente misure restrittive specifiche. Ad esempio in Francia, l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM) ha vietato nel giugno 2023 la produzione, la vendita e la detenzione di HHC, HHCO e HHCP, classificandoli come stupefacenti a causa dei loro effetti psicoattivi analoghi al THC. In Germania, l'HHC è stato inserito nel Neue-psychoaktive-Stoffe-Gesetz (NpSG), la normativa dedicata alle nuove sostanze psicoattive, che ne proibisce il commercio. Anche Austria, Danimarca, Finlandia e Svezia hanno introdotto restrizioni o inserito la molecola nei rispettivi elenchi di controllo nazionali.

In Italia, con il Decreto del Ministero della Salute del 13 luglio 2023 (pubblicato in Gazzetta Ufficiale n. 172 del 25 luglio 2023), l'HHC, insieme ai suoi derivati HHC-acetato

(HHC-O) e HHC-P, è stato ufficialmente inserito nella Tabella I del DPR 309/1990 (Testo Unico sugli stupefacenti) che include le sostanze a forte potenziale d'abuso e prive di un uso terapeutico riconosciuto. Di conseguenza, la produzione, il traffico, il commercio e la detenzione non autorizzata di HHC sul territorio italiano sono perseguiti penalmente ai sensi dell'articolo 73 del medesimo Testo Unico.

A livello internazionale, nel marzo 2025 l'ONU ha classificato l'HHC come sostanza controllata, inserendola nella Lista II della Convenzione sulle sostanze psicotrope del 1971, di fatto introducendo un divieto globale sulla sua vendita libera e sull'uso ricreativo. Da quel momento la maggior parte dei Paesi sta seguendo la stessa direzione, vietando l'HHC a livello nazionale.

Un ulteriore elemento critico riguarda la sicurezza sanitaria dei prodotti. La produzione industriale dell'HHC avviene frequentemente mediante trasformazioni chimiche del CBD attraverso catalizzatori metallici (come palladio o nichel) e solventi organici. In assenza di standard produttivi industriali uniformi e monitoraggi regolatori di tipo farmaceutico, i prodotti finali possono contenere residui di solventi, contaminanti metallici o stereoisomeri (9R-HHC e 9S-HHC) non caratterizzati dal punto di vista tossicologico. Tale problematica è stata ribadita nei successivi aggiornamenti dell'EUDA nel quadro del Sistema di Allerta Precoce (EWS) sulle nuove droghe sintetiche.

Alla luce delle attuali evidenze scientifiche, appare fondamentale promuovere ulteriori studi farmacologici, tossicologici e clinici sull'HHC, al fine di definire con maggiore precisione il suo profilo di sicurezza e supportare l'attività degli organismi di vigilanza. Parallelamente, risulta essenziale l'adozione di strategie regolatorie basate sul principio di precauzione per limitare i rischi sanitari associati alla diffusione incontrollata di cannabinoidi semisintetici emergenti.

OBIETTIVO DELLA TESI

L'HHC rappresenta un cannabinoide semisintetico di recente diffusione, strutturalmente correlato al Δ^9 -tetraidrocannabinolo (Δ^9 -THC) e comparso negli ultimi anni nel mercato delle nuove sostanze psicoattive. Nonostante la crescente disponibilità di prodotti contenenti HHC, le conoscenze relative al suo profilo farmacocinetico, tossicologico e clinico nell'uomo risultano ancora limitate.

La presenza di differenti epimeri, principalmente 9R-HHC e 9S-HHC, la possibile variabilità compositiva dei prodotti commerciali e la scarsità di dati sperimentali controllati rendono complessa l'interpretazione degli effetti clinici e dei risultati tossicologico-analitici. Tale aspetto assume particolare rilevanza in ambito sanitario e medico-legale, soprattutto per quanto riguarda la valutazione dell'esposizione recente, delle finestre di rilevabilità nelle diverse matrici biologiche e delle possibili implicazioni cliniche correlate all'assunzione.

Alla luce di tali premesse, l'obiettivo principale della presente tesi è quello di descrivere il profilo farmacocinetico, tossicologico-analitico e clinico dell'HHC in volontari sani, attraverso l'analisi dei dati ottenuti nell'ambito di uno studio sperimentale controllato. In particolare, lo studio si propone di valutare l'andamento temporale delle concentrazioni di 9R-HHC, 9S-HHC e dei principali metaboliti in differenti matrici biologiche, quali sangue, urine e fluido orale, dopo singola assunzione controllata di HHC. L'analisi delle diverse matrici consente di confrontare la distribuzione della sostanza e dei suoi metaboliti nel tempo, contribuendo alla definizione delle rispettive finestre di rilevabilità.

Un ulteriore obiettivo è rappresentato dalla valutazione degli aspetti tossicologico-analitici, con particolare attenzione alla capacità delle metodiche di laboratorio di identificare e distinguere gli epimeri dell'HHC e i relativi metaboliti. Tale elemento risulta rilevante in ambito forense, poiché la corretta identificazione analitica dei cannabinoidi emergenti è essenziale per evitare interpretazioni non specifiche o potenzialmente fuorvianti.

Infine, la tesi si propone di descrivere gli effetti clinici osservati nei volontari sani dopo assunzione controllata della sostanza, mediante monitoraggio dei parametri clinici e della sintomatologia riferita. Lo scopo non è quello di definire un profilo di sicurezza

definitivo dell'HHC, ma di fornire un contributo preliminare alla caratterizzazione dei suoi effetti nell'uomo, integrando dati farmacocinetici, tossicologico-analitici e clinici.

Nel complesso, il lavoro intende contribuire alla comprensione del comportamento dell'HHC nelle matrici biologiche umane e fornire elementi utili per l'interpretazione dei risultati tossicologici in ambito clinico, medico-legale e forense.

MATERIALI E METODI

3.1. Descrizione dello studio

Lo studio oggetto della presente tesi è uno studio sperimentale *in vivo* condotto su volontari sani, finalizzato alla valutazione del profilo farmacocinetico, tossicologico-analitico e clinico dell'esaidrocannabinolo (HHC) dopo singola assunzione controllata per via inalatoria.

L'obiettivo principale dello studio clinico è stato quello di rilevare e quantificare i due principali epimeri dell'HHC, 9R- HHC e 9S-HHC, e i relativi metaboliti in matrici biologiche, rappresentate da sangue, urina e fluido orale. Parallelamente è stato effettuato il monitoraggio clinico dei partecipanti, mediante rilevazione dei principali parametri vitali e racconto della sintomatologia soggettiva riferita dopo l'assunzione.

A tal fine sono stati reclutati per passaparola sette volontari sani che hanno partecipato ad una sessione sperimentale della durata complessiva di 48 ore, di cui le prime 10 ore si sono svolte in regime ambulatoriale presso l'Istituto di Cura del Paziente e Ricerca Scientifica (IRCCS- INRCA) di Ancona, in ambiente idoneo allo svolgimento dello studio clinico.

Lo studio è stato condotto nel rispetto dei principi della Dichiarazione di Helsinki e tutti i partecipanti hanno fornito consenso informato scritto prima dell'inclusione nello studio.

3.2. Criteri di inclusione ed esclusione

Sono stati inclusi soggetti maggiorenni, in buone condizioni generali di salute, che non avessero assunto HHC nei sei mesi precedenti l'arruolamento. Ciascun volontario è stato sottoposto a una valutazione clinica preliminare, comprendente esame obiettivo completo, esami ematochimici di routine e un tracciato elettrocardiografico standard.

Prima dell'inizio della sessione sperimentale è stato inoltre eseguito uno screening tossicologico urinario mediante un sistema avanzato di cromatografia liquida ad alte prestazioni (Dionex UltiMate 3000) accoppiato a uno spettrometro di massa ad alta

risoluzione (Thermo Scientific Q Exactive - LC-HRMS/MS), volto ad escludere l'assunzione recente delle principali sostanze d'abuso tra cui oppiacei, cocaina, cannabinoidi e anfetamine.

Sono stati esclusi i soggetti che non soddisfacevano i criteri di inclusione, che presentavano alterazioni cliniche o strumentali rilevanti alla valutazione preliminare, che risultavano positivi allo screening tossicologico o che non erano in grado di fornire consenso informato valido.

3.3. Caratteristiche della popolazione in studio

Lo studio ha coinvolto sette volontari, di cui quattro di sesso maschile (identificati come soggetto 1, 2, 3 e 5) e tre di sesso femminile (soggetto 4, 6 e 7).

L'età media dei partecipanti era di 37 anni ($\pm 16,1$), mentre il peso corporeo medio risultava pari a 70 kg (± 10) per gli uomini e 60 kg (± 5) per le donne.

Tra i volontari, i soggetti 4, 5 e 6 riferivano abitudine tabagica.

Tali caratteristiche sono state considerate nella successiva interpretazione dei dati, in ragione della possibile variabilità interindividuale nell'assorbimento, nel metabolismo e nell'eliminazione dell'HHC.

3.4. Modalità di somministrazione, raccolta dei campioni biologici e protocollo sperimentale

Ciascun partecipante ha assunto HHC mediante inalazione, fumando una sigaretta contenente 25 mg di miscela di HHC in 500 mg di tabacco. La somministrazione è avvenuta nella fase iniziale della sessione sperimentale, sotto supervisione del personale sanitario coinvolto nello studio.

Per consentire il prelievo seriato dei campioni ematici, a ciascun soggetto è stato posizionato, a cura del personale infermieristico dedicato, un accesso venoso periferico da 21 gauge a livello del circolo venoso del cavo antecubitale, preferibilmente a carico della vena cefalica o basilica. L'accesso venoso è stato mantenuto in sede per l'intera durata della fase ambulatoriale dello studio.

Durante la fase di osservazione ambulatoriale era prevista la presenza di personale medico, al fine di garantire il monitoraggio clinico dei partecipanti e la gestione di eventuali reazioni avverse. Le misurazioni sono iniziate nel tardo pomeriggio, in un intervallo compreso tra le ore 17.45 e le 19.15.

3.5. Raccolta delle matrici biologiche

Le matrici biologiche analizzate nello studio comprendevano sangue, urina e fluido orale. I campioni sono stati raccolti prima dell'assunzione di HHC (tempo 0), e successivamente a intervalli prestabiliti dopo la somministrazione.

I campioni ematici sono stati raccolti al tempo zero e a 10, 20 e 30 minuti, quindi a 1, 2 e 3 ore dopo l'assunzione.

I campioni di fluido orale sono stati raccolti prima dell'assunzione e successivamente a 10, 20, 30 e 45 minuti, quindi a 1, 1,5, 2 e 3 ore dopo la somministrazione.

I campioni urinari sono stati raccolti al tempo zero e successivamente a 10, 20, 30 minuti, quindi a 1, 2, 3, 6, 12, 24 e 48 ore dopo l'assunzione.

Nel complesso, il protocollo prevedeva una raccolta seriatà delle matrici biologiche, per un totale di 168 campioni, finalizzata a descrivere l'andamento temporale delle concentrazioni di HHC e dei suoi metaboliti nelle diverse fasi successive all'inalazione. Tale approccio ha consentito di confrontare matrici caratterizzate da diversa utilità tossicologico-forense: il sangue, maggiormente indicativo dell'esposizione recente; il fluido orale, utile per il monitoraggio ravvicinato all'assunzione; e l'urina, caratterizzata da una finestra di rilevabilità più prolungata.

3.6. Metodiche analitiche di laboratorio e parametri farmacocinetici valutati

L'analisi dei campioni biologici è stata condotta mediante metodica in cromatografia liquida ad ultra-prestazione accoppiata alla spettrometria di massa tandem (UHPLC-MS/MS), finalizzata all'identificazione e alla quantificazione stereoselettiva degli epimeri 9R-HHC e 9S-HHC e dei principali metaboliti dell'HHC.

Il metodo analitico ha consentito la determinazione degli epimeri dell'HHC e di diversi metaboliti idrossilati e carbossilati, tra cui 11-Nor-9R-COOH- HHC, 11-Nor-9S-COOH-HHC, 11-OH-9R-HHC, 9 α -OH-HHC e 8R-OH-9R-HHC, 8S-OH-9S-HHC). La separazione stereoselettiva degli epimeri è stata ottenuta mediante colonne chirali, con tempi di ritenzione distinti per 9R-HHC e 9S-HHC.

La metodica ha permesso l'analisi simultanea degli epimeri e dei metaboliti nelle matrici biologiche considerate, utilizzando volumi ridotti di campione. In particolare, il metodo ha consentito la separazione degli epimeri HHC e dei relativi metaboliti in sangue, urina e fluido orale, con un volume minimo di campione pari a 100 μ L e tempi di preparazione contenuti.

I principali parametri valutati comprendevano l'andamento temporale delle concentrazioni degli epimeri e dei metaboliti, il raggiungimento del picco di concentrazione, la persistenza nelle diverse matrici biologiche e la possibile differenza di comportamento tra 9R-HHC e 9S-HHC. Tali elementi sono stati utilizzati per descrivere il profilo farmacocinetico della sostanza e per valutare la potenziale utilità delle diverse matrici nell'identificazione dell'esposizione recente o pregressa ad HHC.

3.7. Parametri clinici e monitoraggio degli effetti

Parallelamente alla raccolta delle matrici biologici, nelle prime ore successive all'assunzione sono stati monitorati i principali parametri vitali. In particolare, sono stati rilevati pressione arteriosa, frequenza cardiaca, saturazione periferica di ossigeno e temperatura corporea.

La pressione sanguigna è stata misurata tramite sfigmomanometri digitali automatici da braccio; la frequenza cardiaca e la saturazione periferica di ossigeno sono misurate tramite pulsossimetro saturimetro palmare; la temperatura corporea è stata rilevata tramite termometro digitale a contatto.

I partecipanti sono stati invitati a riferire eventuali sintomi o sensazioni soggettive avvertite sia durante le 10 ore di osservazione ambulatoriale, che per le successive 48 ore

dall'assunzione di HHC. È stato inoltre richiesto ai partecipanti di monitorare il proprio stato psicofisico ed eventuali alterazioni dello stesso a 7 giorni e a 1 mese dall'assunzione.

Tale monitoraggio è stato finalizzato a descrivere gli effetti clinici acuti e subacuti dell'HHC nei volontari sani, integrando i dati clinici con quelli tossicologico-analitici ottenuti dalle matrici biologiche.

RISULTATI

4.1. Caratteristiche del campione

Dei sette partecipanti inclusi nello studio, solo sei hanno completato l'intero protocollo sperimentale. Un partecipante, identificato come soggetto 7, di sesso femminile, ha interrotto anticipatamente la sperimentazione a seguito della comparsa di una sintomatologia acuta caratterizzata da ipotensione severa, nausea, cefalea, visione offuscata, vertigini e lipotimia.

Nel soggetto 7 è stato possibile effettuare solo i quattro prelievi ematici iniziali (a tempo zero, a 10, 20 e 30 minuti dopo il consumo) fino all'interruzione dello studio. Negli altri sei partecipanti i campioni ematici sono stati raccolti secondo protocollo previsto, al tempo zero e successivamente a 10, 20, 30 minuti, quindi a 1, 2 e 3 ore dopo l'assunzione.

Per quanto riguarda i campioni urinari, nei soggetti valutabili è stato possibile raccogliere le urine ai tempi previsti dal protocollo, fino a 48 ore dalla somministrazione. Non sono invece disponibili campioni urinari relativi al soggetto 7.

Analogamente per i campioni di fluido orale, sei partecipanti hanno completato il campionamento programmato, mentre per il soggetto 7 è disponibile un unico campione raccolto a 10 minuti dalla somministrazione.

Per ciascuna matrice biologica e per ciascun analita sono stati calcolati i valori individuali, il valore medio, la deviazione standard e l'errore standard. I risultati sono riportati nelle sezioni successive, suddivisi per matrice biologica e per composto analizzato.

4.2. Risultati farmacocinetici

I risultati farmacocinetici sono stati analizzati separatamente nelle tre matrici biologiche considerate: sangue, fluido orale e urine. Per ciascuna matrice sono state valutate le concentrazioni degli epimeri 9R-HHC e 9S-HHC e, quando rilevabili, dei principali metaboliti identificati. Le concentrazioni sono espresse in ng/mL e sono riportate nelle tabelle in forma individuale e aggregata, mediante calcolo della media, della deviazione standard

(SD) e dell'errore standard della media (SE). L'analisi è stata condotta sui sei soggetti che hanno completato il protocollo sperimentale.

4.2.1. Risultati da campioni ematici

I campioni ematici hanno consentito di valutare l'andamento temporale degli epimeri 9R-HHC e 9S-HHC nelle prime ore successive all'assunzione. I risultati sono riportati nelle Tabelle 4.1 e 4.2.

Tabella 4.1: *Analisi descrittiva delle concentrazioni plasmatiche di 9R-HHC (ng/mL) in sei soggetti in studio. La tabella riporta i valori individuali, la media, la deviazione standard (SD) e l'errore standard (SE) per ogni time point analizzato.*

Tempo	Sogg 1	Sogg 2	Sogg 3	Sogg 4	Sogg 5	Sogg 6	Media	SD	SE
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10'	13,68	3,92	5,00	94,95	13,70	15,45	24,45	34,88	24,66
20'	14,59	4,13	6,68	118,37	18,53	17,81	30,02	43,68	30,89
30'	19,39	3,77	4,05	73,23	19,46	19,27	23,19	25,66	18,14
1 h	9,62	3,66	3,43	21,04	10,74	56,11	17,43	20,00	14,14
2 h	5,09	3,53	2,94	13,26	6,23	27,78	9,81	9,55	6,76
3 h	4,42	3,49	2,89	12,43	4,64	13,18	6,84	4,67	3,30

Tabella 4.2: *Analisi descrittiva delle concentrazioni plasmatiche di 9S-HHC (ng/mL) in sei soggetti in studio. La tabella riporta i valori individuali, la media, la deviazione standard (SD) e l'errore standard (SE) per ogni time point analizzato.*

Tempo	Sogg 1	Sogg 2	Sogg 3	Sogg 4	Sogg 5	Sogg 6	Media	SD	SE
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10'	7,75	2,83	4,07	35,70	8,34	9,08	11,30	12,21	8,63
20'	9,03	3,07	4,46	42,50	9,85	9,29	13,03	14,71	10,40
30'	10,36	4,37	4,16	33,03	9,60	10,13	11,94	10,71	7,57
1 h	22,91	3,22	3,80	14,21	6,63	14,96	10,95	7,74	5,47
2 h	18,72	2,41	3,71	9,88	4,20	20,02	9,82	7,84	5,54
3 h	5,12	2,30	3,08	8,15	4,39	17,10	6,69	5,49	3,88

Nei campioni ematici entrambi gli epimeri sono risultati rilevabili precocemente dopo l'assunzione. Il 9R-HHC ha mostrato concentrazioni medie superiori rispetto al 9S-HHC nella maggior parte degli intervalli temporali considerati. Per entrambi gli epimeri, il picco medio è stato osservato a circa 20 minuti dalla somministrazione, seguito da una progressiva riduzione delle concentrazioni nelle ore successive.

Le concentrazioni medie di 9R-HHC hanno raggiunto un valore massimo pari a 30,02 ng/mL, mentre quelle di 9S-HHC hanno raggiunto un valore massimo pari a 13,03 ng/mL. Tale andamento suggerisce una rapida comparsa della sostanza nel compartimento ematico dopo assunzione inalatoria, con successiva fase di distribuzione ed eliminazione.

È stata osservata un'elevata variabilità interindividuale, particolarmente evidente nei time point di picco. In particolare, il soggetto 4 ha presentato concentrazioni più elevate rispetto agli altri partecipanti, con valori massimi pari a 118,37 ng/mL per 9R-HHC e 42,50 ng/mL per 9S-HHC. Questo dato contribuisce all'ampiezza della deviazione standard osservata nei valori medi.

Tabella 4.3: *Analisi descrittiva delle concentrazioni plasmatiche di 11-NOR-9R-HHC (ng/mL) in sei soggetti in studio. La tabella riporta i valori individuali, la media, la deviazione standard (SD) e l'errore standard (SE) per ogni time point analizzato.*

Tempo	Sogg 1	Sogg 2	Sogg 3	Sogg 4	Sogg 5	Sogg 6	Media	SD	SE
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10'	0,00	0,00	0,00	0,80	0,00	0,10	0,16	0,36	0,25
20'	0,00	0,00	0,00	6,33	0,00	2,00	1,27	2,83	2,00
30'	0,00	0,00	0,00	11,66	0,00	5,24	2,33	5,21	3,69
1 h	0,00	0,00	0,00	5,71	0,00	6,32	1,14	2,55	1,81
2 h	0,00	0,00	0,00	4,79	0,00	3,30	0,96	2,14	1,51
3 h	0,00	0,00	0,00	0,88	0,00	0,90	0,18	0,39	0,28

Tra i metaboliti valutati, il 11-NOR-9R-COOH-HHC è stato rilevato solo in due soggetti, con concentrazioni quantificabili tra 30 minuti e 1 ora dalla somministrazione. Negli altri partecipanti le concentrazioni sono risultate inferiori al limite di quantificazione. I valori delle concentrazioni plasmatiche di 11-NOR-9R-HHC sono visualizzabili in Tabella 4.3.

Gli altri metaboliti ricercati nei campioni ematici non sono risultati quantificabili nei soggetti e nei tempi analizzati.

4.2.2 Risultati da campioni di fluido orale

I risultati delle analisi condotte sui campioni di fluido orale sono riportati nelle Tabelle 4.4 e 4.5. Per ciascun composto analizzato, le concentrazioni sono espresse in ng/mL e riportate per ciascun soggetto e per ciascun intervallo temporale, unitamente ai valori di media, deviazione standard (SD) ed errore standard della media (SE).

Tabella 4.4: *Analisi descrittiva delle concentrazioni nel fluido orale di **9R-HHC** (ng/mL) in sei soggetti in studio. La tabella riporta i valori individuali, la media, la deviazione standard (SD) e l'errore standard (SE) per ogni time point analizzato.*

Tempo	Sogg 1	Sogg 2	Sogg 3	Sogg 4	Sogg 5	Sogg 6	Media	SD	SE
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10'	5,12	51,46	141,31	2,67	88,85	57,93	57,89	52,52	37,14
20'	28,74	164,06	57,24	5,39	451,11	69,56	129,35	166,73	117,90
30'	9,97	60,96	35,92	14,04	206,41	58,42	64,29	72,84	51,50
45'	9,90	45,63	26,42	20,80	64,30	43,35	35,07	19,73	13,95
1 h	6,45	33,58	13,36	16,25	3,06	42,50	19,20	15,59	11,03
1.5 h	3,59	32,74	1,26	13,07	1,87	9,44	10,33	11,91	8,42
2 h	2,07	13,31	1,04	6,46	1,03	1,16	4,18	4,94	3,49
3 h	1,63	4,42	0,56	0,20	0,88	0,27	1,33	1,60	1,13

Tabella 4.5: *Analisi descrittiva delle concentrazioni nel fluido orale di **9S-HHC** (ng/mL) in sei soggetti in studio. La tabella riporta i valori individuali, la media, la deviazione standard (SD) e l'errore standard (SE) per ogni time point analizzato.*

Tempo	Sogg 1	Sogg 2	Sogg 3	Sogg 4	Sogg 5	Sogg 6	Media	SD	SE
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10'	13,45	355,62	10,46	13,71	145,04	57,21	99,25	135,76	96,00
20'	46,91	57,45	71,37	21,40	219,60	100,71	86,24	70,42	49,80
30'	33,55	43,47	67,05	23,04	136,63	60,77	60,75	40,64	28,74
45'	30,72	29,34	51,91	33,41	79,51	35,69	43,43	19,46	13,76
1 h	29,99	27,95	27,73	67,58	64,15	24,79	40,37	19,85	14,04
1.5 h	27,20	16,42	12,80	34,46	20,39	24,48	22,62	7,80	5,52
2 h	26,08	5,90	4,55	32,59	3,77	18,79	15,28	12,37	8,74
3 h	14,90	1,06	2,45	28,13	1,98	7,87	9,40	10,55	7,46

Nel fluido orale, entrambi gli epimeri dell'HHC sono risultati rilevabili già a 10 minuti dalla somministrazione, confermando la rapida comparsa della sostanza in questa matrice dopo assunzione per via inalatoria.

Il 9S-HHC ha mostrato un picco medio più precoce, già a 10 minuti dalla somministrazione, con una concentrazione media pari a 99,25 ng/mL. Si osservava una progressiva riduzione delle concentrazioni nel tempo, fino a un valore medio pari a 9,40 ng/mL a 3 ore dall'assunzione.

Il 9R-HHC ha raggiunto il picco medio a 20 minuti dalla somministrazione, con una concentrazione media pari a 129,35 ng/mL. Successivamente, anche per questo epimero, le concentrazioni medie si riducevano progressivamente, fino a raggiungere un valore medio pari a 1,33 ng/mL a 3 ore dall'assunzione.

Rispetto ai campioni ematici, il fluido orale ha mostrato concentrazioni iniziali elevate e un rapido decremento nelle ore successive. Tale andamento appare coerente con la via di somministrazione inalatoria e con la possibile contaminazione iniziale del cavo orale da parte della sostanza assunta.

Anche in questa matrice, è stata osservata un'estrema variabilità interindividuale, particolarmente evidente nei primi time-point. Per il 9R-HHC, il soggetto 5 ha presentato un picco a 20 minuti di 451,11 ng/mL, circa 3,5 volte superiore alla media; mentre per il 9S-HHC il soggetto 2 ha mostrato un valore pari a 355,62 ng/mL a 10 minuti, anche in questo caso 3,5 volte maggiore rispetto alla media. Il soggetto 4 mostra per entrambi i composti una cinetica di assorbimento notevolmente più lenta, con picchi ritardati rispettivamente a 45 minuti e a 1 ora. Nei campioni di fluido orale non sono stati rilevati metaboliti in concentrazioni superiori al limite di quantificazione.

Nel complesso, il fluido orale si conferma una matrice utile per documentare l'assunzione recente di HHC, soprattutto nelle prime ore successive all'inalazione. Tuttavia, la variabilità dei valori e la possibile contaminazione orale impongono cautela nell'interpretazione quantitativa dei risultati.

4.2.3 Risultati da campioni urinari

I risultati delle analisi condotte sui campioni urinari sono riportati nelle Tabelle 4.6–4.11. Per ciascun composto analizzato, le concentrazioni nelle urine, espresse in ng/mL e misurate nei sei soggetti valutabili a seguito della somministrazione di HHC, sono presentate per ogni intervallo temporale sia individualmente che in forma aggregata, mediante il calcolo della media, della deviazione standard (SD) e dell'errore standard della media (SE).

Tabella 4.6: *Analisi descrittiva delle concentrazioni urinarie di 9R-HHC (ng/mL) in sei soggetti in studio. La tabella riporta i valori individuali, la media, la deviazione standard (SD) e l'errore standard (SE) per ogni time point analizzato.*

Tempo	Sogg 1	Sogg 2	Sogg 3	Sogg 4	Sogg 5	Sogg 6	Media	SD	SE
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
30'	3,43	3,80	4,04	3,49	4,19	3,88	3,79	0,33	0,24
1	4,57	4,25	5,49	4,29	4,49	4,39	4,62	0,51	0,36
2	5,76	5,13	9,34	7,35	5,39	6,24	6,59	1,76	1,24
3	6,79	6,84	10,42	7,65	8,96	9,26	8,13	1,55	1,09
6	7,59	9,67	7,65	9,88	9,61	10,88	8,88	1,15	0,82
12	4,34	9,80	6,88	6,43	11,23	11,22	7,73	2,76	1,95
24	3,08	8,73	4,64	4,79	3,54	7,05	4,96	2,23	1,58
48	2,70	3,40	3,49	2,59	3,16	4,22	3,07	0,41	0,29

Tabella 4.7: *Analisi descrittiva delle concentrazioni urinarie di 9S-HHC (ng/mL) in sei soggetti in studio. La tabella riporta i valori individuali, la media, la deviazione standard (SD) e l'errore standard (SE) per ogni time point analizzato.*

Tempo	Sogg 1	Sogg 2	Sogg 3	Sogg 4	Sogg 5	Sogg 6	Media	SD	SE
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
30'	2,31	2,27	2,36	2,30	8,56	5,15	3,56	2,79	1,98
1 h	2,90	3,25	4,05	5,36	11,59	10,40	5,43	3,57	2,52
2 h	4,35	8,06	8,37	7,32	16,34	12,98	8,89	4,46	3,15
3 h	8,30	10,33	10,35	8,36	33,00	16,59	14,07	10,63	7,52
6 h	5,43	8,23	7,69	10,34	17,01	12,46	9,74	4,42	3,13
12 h	4,54	5,59	5,31	2,35	12,11	8,68	5,98	3,65	2,58
24 h	3,80	4,63	3,35	2,32	8,16	3,59	4,45	2,23	1,58
48	2,36	2,88	2,90	1,78	2,39	2,40	2,46	0,46	0,32

Nelle urine, 9R-HHC e 9S-HHC sono risultati rilevabili a partire da 30 minuti dalla somministrazione. Il 9R-HHC ha mostrato un incremento progressivo delle concentrazioni medie fino al picco osservato a 6 ore, pari a 8,88 ng/mL, seguito da una riduzione graduale fino a 3,07 ng/mL a 48 ore. Il 9S-HHC ha raggiunto invece il picco medio a 3 ore, con concentrazione pari a 14,07 ng/mL, per poi ridursi progressivamente fino a 2,46 ng/mL a 48 ore.

Rispetto al sangue e al fluido orale, la matrice urinaria ha mostrato una finestra di rilevabilità più prolungata, con persistenza degli epimeri fino all'ultimo intervallo temporale analizzato, pari a 48 ore dalla somministrazione.

Tabella 4.8: *Analisi descrittiva delle concentrazioni urinarie di 11-NOR-9R-HHC (ng/mL) in sei soggetti in studio. La tabella riporta i valori individuali, la media, la deviazione standard (SD) e l'errore standard (SE) per ogni time point analizzato.*

Tempo	Sogg 1	Sogg 2	Sogg 3	Sogg 4	Sogg 5	Sogg 6	Media	SD	SE
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
30'	7,24	4,86	4,04	6,22	7,11	6,20	5,89	1,40	0,99
1 h	10,02	14,19	7,22	9,25	11,19	8,24	10,37	2,58	1,82
2 h	12,07	19,21	9,32	11,40	13,31	11,29	13,06	3,73	2,64
3 h	25,05	14,55	12,57	16,35	19,42	14,46	17,59	4,87	3,45
6 h	37,42	6,31	19,72	22,22	21,96	22,51	21,53	11,05	7,81
12 h	23,44	5,04	15,13	19,03	15,32	18,43	15,59	6,80	4,81
24 h	16,24	4,30	13,04	13,70	11,17	5,32	11,69	4,51	3,19
48 h	3,45	3,84	6,02	5,11	6,10	3,11	4,90	1,22	0,86

Tabella 4.9: *Analisi descrittiva delle concentrazioni urinarie di 11-NOR-9S-HHC (ng/mL) in sei soggetti in studio. La tabella riporta i valori individuali, la media, la deviazione standard (SD) e l'errore standard (SE) per ogni time point analizzato.*

Tempo	Sogg 1	Sogg 2	Sogg 3	Sogg 4	Sogg 5	Sogg 6	Media	SD	SE
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
30'	1,21	0,55	2,41	1,60	0,77	3,41	1,31	0,74	0,52
1 h	2,28	0,88	4,39	2,49	0,84	4,83	2,18	1,46	1,03
2 h	2,58	1,25	6,47	2,75	1,17	6,49	2,85	2,16	1,52
3 h	2,78	2,08	7,19	3,46	4,18	7,75	3,94	1,98	1,40
6 h	4,84	4,57	7,95	2,33	5,72	10,87	5,08	2,03	1,44
12 h	3,58	2,41	6,29	2,06	4,78	6,39	3,82	1,75	1,23
24 h	2,96	1,83	3,13	1,41	2,27	2,57	2,32	0,73	0,52
48 h	0,64	0,49	2,57	0,83	1,27	1,01	1,16	0,84	0,60

Tra i metaboliti urinari, il 11-NOR-9R-COOH-HHC è risultato il composto più abbondante. Le concentrazioni medie sono aumentate progressivamente fino al picco osservato a 6 ore, pari a 21,53 ng/mL, con persistenza di valori quantificabili fino a 48 ore, quando la concentrazione media era pari a 4,90 ng/mL.

Il 11-NOR-9S-COOH-HHC ha mostrato un andamento analogo, ma con concentrazioni inferiori. Il picco medio è stato osservato a 6 ore, con valore pari a 5,08 ng/mL, seguito da progressiva riduzione fino a 1,16 ng/mL a 48 ore.

Tabella 4.10: *Analisi descrittiva delle concentrazioni urinarie di 11-OH-9R-HHC (ng/mL) in sei soggetti in studio. La tabella riporta i valori individuali, la media, la deviazione standard (SD) e l'errore standard (SE) per ogni time point analizzato.*

Tempo	Sogg 1	Sogg 2	Sogg 3	Sogg 4	Sogg 5	Sogg 6	Media	SD	SE
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
30'	2,09	2,00	0,95	0,95	2,28	1,04	1,66	0,65	0,46
1 h	3,03	3,06	1,14	1,12	2,45	2,81	2,16	0,97	0,69
2 h	5,04	3,08	2,04	2,47	3,49	8,40	3,22	1,16	0,82
3 h	4,02	4,08	3,10	4,33	4,00	5,10	3,91	0,47	0,33
6 h	3,24	5,09	2,65	3,05	2,16	2,95	3,24	1,11	0,79
12 h	3,06	2,09	1,95	2,06	1,76	2,04	2,18	0,51	0,36
24 h	1,09	1,24	1,14	2,09	1,12	1,03	1,34	0,42	0,30
48 h	0,70	0,06	0,26	0,72	1,09	0,54	0,57	0,41	0,29

Tabella 4.11: *Analisi descrittiva delle concentrazioni urinarie di 9 α -OH-HHC (ng/mL) in sei soggetti in studio. La tabella riporta i valori individuali, la media, la deviazione standard (SD) e l'errore standard (SE) per ogni time point analizzato.*

Tempo	Sogg 1	Sogg 2	Sogg 3	Sogg 4	Sogg 5	Sogg 6	Media	SD	SE
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
30'	0,98	1,06	0,20	0,86	0,96	0,61	0,81	0,35	0,25
1 h	1,08	1,33	0,71	0,90	1,16	0,94	1,04	0,24	0,17
2 h	1,45	2,48	0,97	1,12	1,24	1,18	1,45	0,60	0,43
3 h	2,04	3,52	1,46	1,67	2,05	2,12	2,15	0,81	0,57
6 h	3,07	3,11	2,09	2,09	3,07	2,25	2,69	0,54	0,38
12 h	2,05	2,11	1,96	1,11	2,08	1,27	1,86	0,42	0,30
24 h	1,07	0,94	1,56	1,07	1,46	1,07	1,22	0,27	0,19
48 h	0,98	0,60	1,14	0,51	0,83	0,65	0,81	0,26	0,18

Il 11-OH-9R-HHC è risultato quantificabile nelle urine già a 30 minuti dalla somministrazione, con un picco medio a 3 ore pari a 3,91 ng/mL e successiva riduzione fino a 0,57 ng/mL a 48 ore.

Il 9 α -OH-HHC ha presentato concentrazioni inferiori rispetto agli altri metaboliti, con picco medio a 6 ore pari a 2,69 ng/mL e valori ancora rilevabili a 48 ore, pari a 0,81 ng/mL.

Nel complesso, i dati urinari mostrano una maggiore persistenza dei metaboliti rispetto agli epimeri parentali e confermano l'utilità dell'urina come matrice per documentare l'esposizione ad HHC anche a distanza di ore dall'assunzione. In particolare, il 11-NOR-9R-COOH-HHC appare il metabolita urinario quantitativamente più rappresentato nel campione analizzato.

I metaboliti 8-OH dell'HHC non sono stati rilevati in nessuno dei campioni analizzati. In tutti i composti si osserva una variabilità interindividuale moderata-alta, confermata dagli alti deviazione ed errore standard, con soggetti outlier che influenzano significativamente i valori medi, in particolare ai time point di picco.

4.3. Risultati tossicologico-analitici

L'analisi tossicologico-analitica dei campioni biologici ha consentito l'identificazione e la quantificazione degli epimeri 9R-HHC e 9S-HHC e di alcuni dei principali metaboliti dell'HHC nelle matrici esaminate, rappresentate da sangue, urina e fluido orale.

Complessivamente, i dati ottenuti delineano un profilo farmacocinetico dell'HHC caratterizzato da un rapido assorbimento e da una metabolizzazione precoce, con concentrazioni rilevabili già nei primi minuti successivi alla somministrazione. In tutti i fluidi biologici analizzati, l'epimero 9R-HHC ha mostrato concentrazioni sistematicamente superiori rispetto al 9S-HHC, ad eccezione dei campioni urinari, confermando una marcata stereoselettività nel metabolismo e nella distribuzione di questo cannabinoide.

Nei campioni ematici, 9R-HHC e 9S-HHC sono risultati rilevabili già nei primi minuti successivi all'assunzione, con picco medio osservato intorno a 20 minuti e successiva progressiva riduzione delle concentrazioni. Tale andamento è coerente con la via di somministrazione inalatoria, caratterizzata da rapido assorbimento sistemico.

Nel fluido orale le concentrazioni degli epimeri sono risultate elevate nei primi intervalli temporali con picchi medi di 129,35 ng/mL per il 9R-HHC e 99,25 ng/mL per il 9S-HHC, con successiva riduzione progressiva.

Nelle urine sono stati rilevati sia gli epimeri parentali sia metaboliti idrossilati e carbossilati (11-NOR-9R-COOH-HHC, 11-NOR-9S-COOH-HHC, 11-OH-9R-HHC e 9 α -OH-HHC), con persistenza fino all'ultimo tempo di osservazione, pari a 48 ore. In particolare, il 11-NOR-9R-COOH-HHC è risultato il metabolita quantitativamente più rappresentato tra quelli identificati, seguito dal 11-NOR-9S-COOH-HHC e dagli altri metaboliti idrossilati.

In Figura 4 sono mostrati l'andamento nel tempo delle concentrazioni per tutti i composti rilevati nelle urine così da rendere immediata la lettura a confronto.

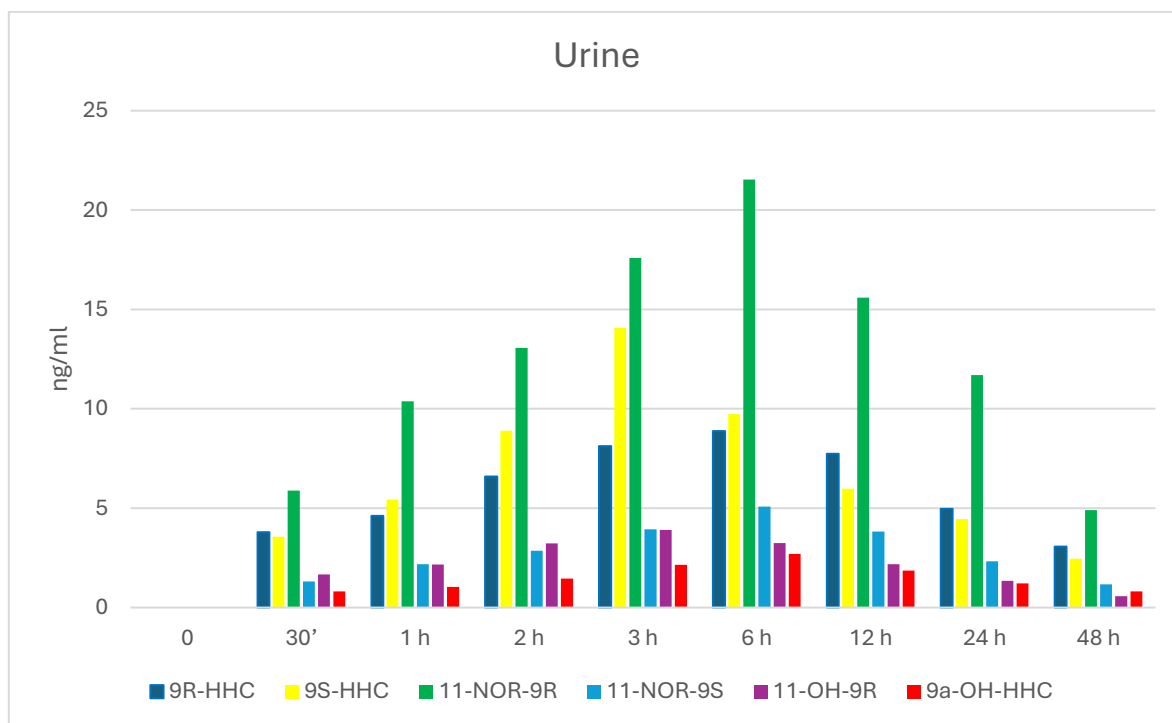


Figura 4: Il grafico illustra le concentrazioni urinarie degli isomeri e dei metaboliti di HHC

Tali risultanze confermano un metabolismo epatico con formazione di composti idrossilati e carbossilati, analogo a quello documentato per il Δ^9 -THC. L'assenza dei metaboliti 8-OH-HHC in tutti i campioni analizzati suggerisce una via metabolica preferenziale, mentre le differenze nei tempi di picco e nella velocità di clearance tra i metaboliti, più rapida per il 11-OH-9R-HHC (picco a 3 ore) e più prolungata per il 11-NOR-9R-COOH-HHC (rilevabile fino a 48 ore), ne delineano potenziali applicazioni differenziate come marker diagnostici per finestre temporali diverse.

La Figura 5 mette a confronto i dati ottenuti dall'analisi dei due epimeri dell'HHC nelle 3 differenti matrici biologiche ponendo meglio in evidenza i dati sopra discussi.

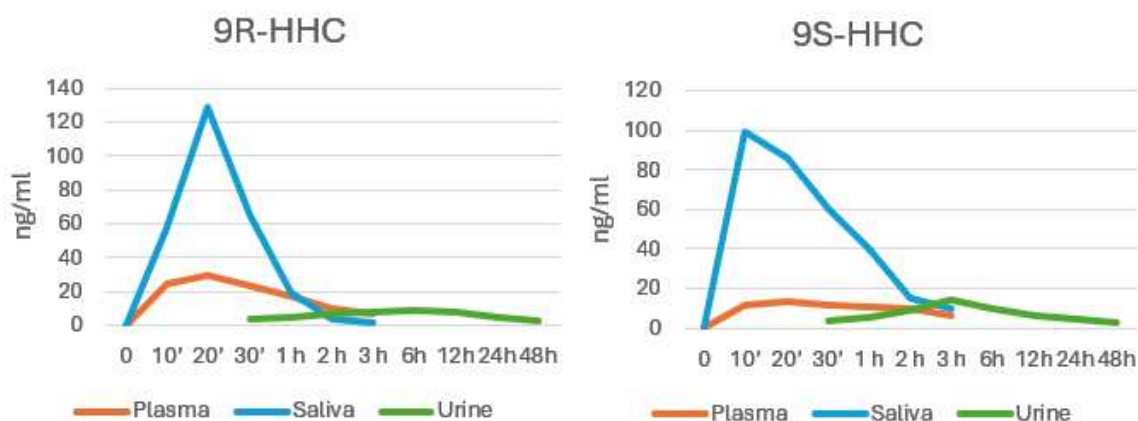


Figura 5: Confronto visivo tra concentrazioni ematiche, nel fluido orale e urinarie di 9R-HHC e 9S-HHC

Nel complesso, i risultati tossicologico-analitici confermano che l'HHC può essere identificato in diverse matrici biologiche dopo singola assunzione controllata. Tuttavia, ciascuna matrice presenta un diverso significato interpretativo: il sangue documenta più direttamente l'esposizione recente, il fluido orale risulta utile nelle fasi immediatamente successive all'inalazione, mentre l'urina consente una rilevabilità più prolungata, soprattutto attraverso i metaboliti.

Un ulteriore elemento emerso dall'analisi è rappresentato dall'elevata variabilità interindividuale delle concentrazioni rilevate. A parità di modalità di assunzione e di dose somministrata, i soggetti hanno mostrato valori anche sensibilmente differenti, sia per gli epimeri parentali sia per i metaboliti. Tale variabilità può dipendere da diversi fattori, tra cui modalità individuale di inalazione, profondità e durata dell'aspirazione, abitudine tabagica, caratteristiche metaboliche individuali, distribuzione nei tessuti e differenze nei processi di assorbimento ed eliminazione. Questo dato impone cautela nell'interpretazione quantitativa dei risultati, poiché la concentrazione rilevata in una singola matrice non consente, da sola, di ricostruire con precisione la dose assunta né di definire in modo automatico l'entità degli effetti clinici.

Pertanto, l'interpretazione tossicologico-forense dell'HHC deve tenere conto non solo della positività analitica, ma anche della matrice esaminata, del tempo trascorso dall'assunzione, della presenza dei metaboliti, dell'andamento temporale delle concentrazioni e della possibile variabilità individuale nella risposta farmacocinetica.

4.4. Risultati clinici

Parallelamente al campionamento delle matrici biologiche, nelle prime 6 ore successive all'assunzione di HHC sono stati monitorati i principali parametri vitali, inclusi pressione arteriosa, frequenza cardiaca, saturazione periferica di ossigeno e temperatura corporea. È stata inoltre raccolta la sintomatologia riferita dai partecipanti durante le 10 ore di osservazione ambulatoriale e nei successivi follow-up effettuati a 48 ore, 7 giorni e 1 mese dopo l'assunzione.

Il soggetto 7 ha interrotto precocemente la partecipazione allo studio a causa dell'insorgenza di una sintomatologia acuta caratterizzata da severa ipotensione, nausea, cefalea, visione offuscata, vertigini e lipotimia; pertanto, per questo soggetto sono disponibili esclusivamente i dati relativi ai tempi 0, 10 e 20 minuti.

Per quanto riguarda la pressione arteriosa, nella maggior parte dei soggetti non sono state osservate variazioni clinicamente rilevanti. Nel complesso, la PAS ha mostrato modeste variazioni nel tempo, con un lieve incremento nei primi 30 minuti in alcuni soggetti, seguito da una progressiva normalizzazione. La PAD ha evidenziato una tendenza alla riduzione nelle fasi iniziali del monitoraggio, con successivo ritorno verso i valori basali.

Due partecipanti (soggetto 4 e 7) hanno tuttavia mostrato alterazioni emodinamiche più marcate. In particolare, il soggetto 4 ha presentato una riduzione marcata della pressione arteriosa a 20 e 30 minuti, con valori minimi di 80/55 mmHg e 85/65 mmHg. Analogamente, il soggetto 7 ha manifestato un episodio di ipotensione severa, caratterizzato da una marcata riduzione della PAD fino a 40 mmHg a 20 minuti dall'assunzione.

La Tabella 4.12 riporta i valori di pressione arteriosa sistolica (PAS) e diastolica (PAD) rilevati ai tempi 0, 10, 20 e 30 minuti, 1, 3 e 6 ore.

Tabella 4.12: Variazioni della pressione arteriosa sistolica/diastolica (PAS/PAD, mmHg) a diversi intervalli temporali successivi alla somministrazione di HHC.

Pressione arteriosa sistolica (PAS) e diastolica (PAD) (mmHg)							
Tempo	Sogg 1	Sogg 2	Sogg 3	Sogg 4	Sogg 5	Sogg 6	Sogg 7
0	125/80	110/70	117/75	115/88	100/75	128/85	120/86
10'	125/85	113/77	120/78	98/60	105/80	125/86	90/75
20'	128/84	120/80	130/85	80/55	110/80	127/84	78/40
30'	140/90	123/78	130/82	85/65	115/83	120/82	/
1 h	135/88	115/75	125/80	100/72	115/78	100/70	/
3 h	135/80	115/72	115/82	110/75	110/75	110/80	/
6 h	127/77	110/75	115/85	110/78	108/74	120/84	/

La Tabella 4.13 riporta i valori di frequenza cardiaca registrati agli stessi intervalli temporali. Nella maggior parte dei partecipanti è stato osservato un aumento della frequenza cardiaca nelle prime fasi dopo la somministrazione, con un picco generalmente raggiunto a circa 20 minuti, seguito da una graduale riduzione nelle ore successive. Gli incrementi più evidenti sono stati osservati nel soggetto 4 (98 bpm a 20 minuti) e nel soggetto 7 (104 bpm a 20 minuti). Il soggetto 6 ha mostrato aumento di frequenza cardiaca più persistente, mantenendo valori relativamente elevati fino a 3 ore.

Nel complesso, l'aumento della frequenza cardiaca è risultato temporalmente associato alla riduzione dei valori pressori osservata in alcuni soggetti, suggerendo una possibile risposta compensatoria riflessa all'ipotensione indotta dall'HHC.

Tabella 4.13: Variazioni della frequenza cardiaca (battiti per minuto) a diversi intervalli temporali successivi alla somministrazione di HHC.

Frequenza Cardiaca (bpm)							
Tempo	Sogg 1	Sogg 2	Sogg 3	Sogg 4	Sogg 5	Sogg 6	Sogg 7
0	59	63	71	69	72	65	62
10'	65	68	73	79	71	69	85
20'	71	70	75	98	82	78	104
30'	78	71	82	97	75	88	/
1 h	65	66	68	78	72	92	/
3 h	65	65	71	70	68	80	/
6 h	62	67	67	72	70	75	/

La saturazione periferica di ossigeno è rimasta sostanzialmente stabile durante il periodo di osservazione. I valori si sono mantenuti complessivamente nel range di normalità (97-99%), senza desaturazioni clinicamente significative nei soggetti monitorati.

La Tabella 4.14 riporta i valori di saturazione di ossigeno (SpO2 %) misurati nei seguenti intervalli temporali: basale (tempo 0), 10, 20 e 30 minuti, 1, 3 e 6 ore.

Tabella 4.14: Variazioni della saturazione di ossigeno (SpO2 %) a diversi intervalli temporali successivi alla somministrazione di HHC.

Saturazione di ossigeno (SpO2%)							
Tempo	Sogg 1	Sogg 2	Sogg 3	Sogg 4	Sogg 5	Sogg 6	Sogg 7
0	99	98	98	99	97	99	97
10'	99	97	99	98	97	99	97
20'	97	99	98	99	98	99	96
30'	98	99	97	98	97	98	/
1 h	99	98	99	98	97	98	/
3 h	98	99	99	99	98	99	/
6 h	98	99	98	98	98	99	/

Anche la temperatura corporea è rimasta sostanzialmente stabile durante l'intero periodo di osservazione, senza variazioni clinicamente rilevanti. Solamente il soggetto 4 ha mostrato una lieve riduzione transitoria a 20 minuti (35,7°C), con successivo ritorno ai valori basali, priva di evidente significato clinico.

La Tabella 4.15 riporta i valori della temperatura corporea rilevati ai tempi 0, 10, 20 e 30 minuti, 1, 3 e 6 ore dopo la somministrazione di HHC.

Tabella 4.15: Variazioni della temperatura corporea (°C) a diversi intervalli temporali successivi alla somministrazione di HHC.

Temperatura Corporea (°C)							
Tempo	Sogg 1	Sogg 2	Sogg 3	Sogg 4	Sogg 5	Sogg 6	Sogg 7
0,00	36.3	35.9	36.5	36.1	36.6	35.8	36.0
10'	36.4	36.1	36.5	35.8	36.4	35.8	35.9
20'	36.3	35.8	36.2	35.7	36.2	36.0	35.3
30'	36.1	36.2	36.3	35.9	36.4	35.9	/
1 h	36.3	36.2	36.4	36.0	36.3	36.1	/
3 h	36.5	36.1	36.1	35.8	35.9	36.2	/
6 h	36.1	36.3	36.9	36.3	36.0	36.0	/

Oltre al monitoraggio dei parametri vitali, i partecipanti sono stati invitati a riferire spontaneamente eventuali sintomi durante le 10 ore di osservazione ambulatoriale e nelle successive 48 ore. Ulteriori informazioni cliniche sono state raccolte mediante follow-up effettuati a 7 giorni e a 1 mese dall'assunzione.

Per quanto riguarda la sintomatologia soggettiva e i segni clinici osservati, è emersa una discreta variabilità interindividuale. Nei primi minuti successivi all'assunzione sono stati riferiti o rilevati soprattutto xerostomia (4/6 soggetti), iperemia congiuntivale, cefalea, rallentamento dell'eloquio (3/6 soggetti), rallentamento motorio (2/6 soggetti). La sintomatologia si attenuava progressivamente fino a risolversi entro le 3 ore, mentre nella

fase tardiva (3–6 ore) 4 soggetti su 6 riferivano aumento dell'appetito, effetto attribuibile all'attivazione dei recettori CB1 ipotalamici.

Il soggetto 4 ha presentato una sintomatologia più evidente rispetto agli altri partecipanti, caratterizzata da intensa cefalea, iperemia congiuntivale, visione offuscata, rallentamento dell'eloquio e rallentamento motorio. Tali manifestazioni si sono progressivamente attenuate nel corso dell'osservazione.

Il soggetto 7 ha presentato il quadro clinico più significativo, con comparsa precoce di ipotensione marcata (PAD da 86 a 40 mmHg), tachicardia riflessa (FC da 62 a 104 bpm), nausea, cefalea, visione offuscata, vertigini e successiva lipotimia, che ha comportato il ritiro dallo studio a 20 minuti dalla somministrazione.

Nelle ore successive sono stati riferiti sintomi gastrointestinali e sistemici di minore entità, tra cui diarrea, spossatezza e aumento dell'appetito. Nei controlli successivi a 7 giorni e a 1 mese alcuni partecipanti hanno riferito disturbi intestinali, quali stipsi o diarrea, e nel soggetto 7 persistenza di nausea o vertigini.

Nel complesso, i risultati clinici mostrano che l'assunzione controllata di HHC ha determinato effetti variabili tra i partecipanti, generalmente lievi e transitori nella maggior parte dei soggetti, ma con comparsa di un episodio acuto clinicamente rilevante in un volontario. I parametri vitali hanno evidenziato soprattutto variazioni pressorie e della frequenza cardiaca nelle prime fasi successive all'assunzione, mentre saturazione periferica di ossigeno e temperatura corporea sono rimaste sostanzialmente stabili.

Un pattern degno di nota riguarda la risposta di genere: i soggetti che hanno sviluppato la sintomatologia più severa (soggetti 4 e 7) erano entrambi di sesso femminile e presentavano risposte ipotensive marcate, mentre i soggetti maschili hanno mostrato sintomi più blandi. Sebbene il campione sia insufficiente per trarre conclusioni definitive, questo dato è coerente con l'ipotesi di una maggiore suscettibilità femminile agli effetti ipotensivi e neurologici dell'HHC, potenzialmente mediata da differenze nella densità recettoriale CB1 o nel profilo metabolico.

In Tabella 4.16 sono riportati nel dettaglio i segni obiettivabili ed i sintomi riferiti dai soggetti arruolati nei diversi intervalli di tempo dopo l'assunzione di HHC.

Tabella 4.16: sintesi dei segni clinici rilevabili e delle manifestazioni riferite dai partecipanti nei vari intervalli temporali post-somministrazione di HHC.

Segni e sintomi							
Tempo	Sogg 1	Sogg 2	Sogg 3	Sogg 4	Sogg 5	Sogg 6	Sogg 7
0	/	/	/	/	/	/	/
10'	/	/	/	intensa cefalea, iperemia congiuntivale	/	/	ipotensione, nausea, cefalea, visione offuscata, vertigini
20'	xerostomia, iperemia congiuntivale	xerostomia	lieve cefalea, rallentamento dell'eloquio	intensa cefalea, iperemia congiuntivale, rallentamento dell'eloquio	xerostomia, iperemia congiuntivale	/	severa ipotensione, lipotimia (RITIRO DALLO STUDIO)
30'	xerostomia, iperemia congiuntivale	/	lieve cefalea, rallentamento dell'eloquio	intensa cefalea, visione offuscata iperemia congiuntivale, rallentamento dell'eloquio, rallentamento motorio	iperemia congiuntivale	cefalea, xerostomia	/
1 h	lieve iperemia congiuntivale	/	lieve cefalea	cefalea, iperemia congiuntivale, rallentamento motorio	/	cefalea, rallentamento dell'eloquio, lieve rallentamento motorio	/
3 h	/	aumento dell'appetito	aumento dell'appetito	lieve cefalea, aumento dell'appetito	/	/	/
6 h	aumento dell'appetito	aumento dell'appetito	/	/	/	/	/
10 – 24 h	diarrea	/	diarrea	spossatezza	/	spossatezza	/
24 -48 h	/	/	/	/	/	/	/
7 gg	/	stipsi	/	stipsi	diarrea	/	nausea, vertigini
1 m	/	/	/	stipsi	diarrea	diarrea	nausea

4.5. Eventi avversi e profilo di sicurezza

Nel corso dello studio sono stati registrati gli eventi clinici e la sintomatologia soggettiva riferita dai volontari dopo singola assunzione controllata di HHC per via inalatoria. La valutazione del profilo di sicurezza deve essere interpretata con cautela, in considerazione della numerosità limitata del campione, della modalità sperimentale di somministrazione e della variabilità interindividuale osservata.

Nella maggior parte dei soggetti gli effetti rilevati sono risultati di lieve entità e a carattere transitorio. Le manifestazioni più frequentemente osservate o riferite nelle prime ore dall'assunzione comprendevano xerostomia, iperemia congiuntivale, cefalea, rallentamento dell'eloquio, rallentamento motorio, aumento dell'appetito e, in alcuni casi, disturbi gastrointestinali nelle ore successive.

Un evento clinicamente più rilevante si è verificato nel soggetto 7, che ha presentato, entro i primi 20 minuti dalla somministrazione, un quadro caratterizzato da marcata ipotensione, nausea, cefalea, visione offuscata, vertigini e lipotimia, con conseguente interruzione della partecipazione allo studio. Tale episodio rappresenta l'evento avverso principale osservato nel corso della sperimentazione e conferma la necessità di un monitoraggio clinico nelle fasi immediatamente successive all'assunzione.

Dal punto di vista cardiovascolare, le variazioni più significative hanno riguardato la pressione arteriosa e la frequenza cardiaca. In particolare, nei soggetti che hanno manifestato riduzione dei valori pressori si è osservato un incremento transitorio della frequenza cardiaca, verosimilmente interpretabile come risposta compensatoria. Non sono invece emerse variazioni clinicamente rilevanti della saturazione periferica di ossigeno né della temperatura corporea.

Un elemento rilevante è rappresentato dall'elevata variabilità interindividuale della risposta clinica. A parità di dose e modalità di assunzione, i volontari hanno presentato quadri differenti per intensità, tipologia e durata della sintomatologia. Alcuni soggetti hanno riferito soltanto manifestazioni lievi, mentre altri hanno sviluppato sintomi più evidenti, fino all'episodio lipotimico osservato nel soggetto 7. Tale variabilità può dipendere da fattori individuali, quali modalità di inalazione, abitudine tabagica, sensibilità recettoriale,

caratteristiche metaboliche, tolleranza individuale e suscettibilità cardiovascolare o neurovegetativa.

Anche la persistenza di alcuni disturbi riferiti nei giorni successivi, quali alterazioni dell'alvo, nausea o vertigini, deve essere interpretata con prudenza. In assenza di un gruppo di controllo e considerata la ridotta numerosità del campione, non è possibile attribuire con certezza tali manifestazioni all'HHC, né definirne con certezza un rapporto dose-effetto.

Nel complesso, i dati clinici raccolti indicano che l'assunzione controllata di HHC può determinare effetti acuti prevalentemente lievi e transitori, ma non esclude la comparsa di eventi più significativi in singoli soggetti. Pertanto, sulla base dei risultati del presente studio, non è possibile definire un profilo di sicurezza conclusivo della sostanza; è tuttavia possibile evidenziare la necessità di ulteriori studi su campioni più ampi, con disegno controllato e follow-up strutturato, al fine di chiarire la tollerabilità, la variabilità individuale della risposta e i potenziali rischi clinici associati all'assunzione di HHC.

DISCUSSIONE

5.1. Interpretazione complessiva dei risultati

I risultati del presente studio confermano che l'esaidrocannabinolo (HHC) possiede un profilo farmacocinetico caratterizzato da rapido assorbimento, precoce distribuzione sistemica e marcata variabilità interindividuale.

In tutti i soggetti che hanno completato il protocollo sperimentale, le concentrazioni ematiche degli epimeri 9R-HHC e 9S-HHC hanno raggiunto il picco entro i primi 20 minuti dalla somministrazione, in stretta associazione temporale con la comparsa della sintomatologia clinica osservata. Questo andamento suggerisce che l'HHC, analogamente ai cannabinoidi classici come il Δ^9 -THC, sia in grado di attraversare rapidamente le barriere biologiche e di interagire precocemente con il sistema endocannabinoide.

Un elemento farmacologicamente rilevante è rappresentato dalla marcata stereoselettività dell'HHC. Nel presente studio, l'epimero 9R-HHC ha raggiunto concentrazioni ematiche medie più elevate rispetto al 9S-HHC, nella maggior parte degli intervalli temporali considerati e ha mostrato una persistenza maggiore nel tempo. Sebbene il numero limitato di soggetti non consenta conclusioni definitive, questi risultati sono compatibili con l'ipotesi che il 9R-HHC possa contribuire in misura prevalente agli effetti farmacologici dell'HHC. Tale osservazione è coerente con quanto riportato da *Lucuta L et al.* (2025) e *Höfert L et al.* (2025), che hanno documentato concentrazioni sistematicamente più elevate dell'epimero 9R-HHC sia dopo somministrazione inalatoria sia dopo assunzione orale. Questa differenza non sembra limitarsi al solo profilo farmacocinetico, ma potrebbe riflettere anche una diversa attività biologica dei due epimeri. In particolare, *Janssens L et al.* (2024) hanno dimostrato che il 9R-HHC possiede una maggiore attività agonista sul recettore CB1 rispetto al 9S-HHC, suggerendo che la composizione epimerica possa influenzare l'intensità e la durata degli effetti clinici. Tale aspetto assume particolare rilievo se si considera che i prodotti commerciali a base di HHC possono contenere proporzioni variabili dei due epimeri, con possibile conseguente variabilità degli effetti farmacologici e tossicologici.

Il metabolismo dell'HHC appare mediato da vie epatiche analoghe a quelle coinvolte nel metabolismo di altri cannabinoidi strutturalmente correlati al THC. In letteratura è stato ipotizzato il coinvolgimento di enzimi del citocromo P450, tra cui CYP3A4 e CYP2C9, con possibili implicazioni in termini di variabilità metabolica individuale e di interazioni farmacologiche: l'HHC può inibire o indurre il CYP3A4, alterando la farmacocinetica di farmaci come warfarin, statine e anticonvulsivanti.

Anche il profilo metabolico osservato appare in linea con le evidenze disponibili. I principali metaboliti identificati sono risultati il 11-NOR-9R-COOH-HHC, rilevato nel sangue e nelle urine, e il 11-NOR-9S-COOH-HHC, il 11-OH-9R-HHC e il 9 α -OH-HHC, rilevati soprattutto nella matrice urinaria. Non sono stati invece rilevati metaboliti appartenenti alla serie 8-OH. Questi dati confermano che l'HHC segue vie metaboliche analoghe a quelle già note per il Δ^9 -THC, con formazione prevalente di metaboliti carbossilati e idrossilati. Analogamente a quanto osservato da Höfert *L et al.* (2025), il 11-NOR-9R-COOH-HHC è risultato il metabolita più abbondante e persistente, con rilevabilità fino a 48 ore nel presente studio. Altri studi hanno stimato per tale metabolita un'emivita prolungata, fino a circa 66 ore, e un possibile accumulo è stato suggerito anche in caso di uso cronico [Thiebot P et al., 2026], analogamente al THC-COOH. Questo dato risulta rilevante ai fini dello screening tossicologico e suggerisce un possibile impiego del 11-NOR-9R-COOH-HHC come biomarcatore di esposizione nei contesti clinici e forensi. Inoltre, la valutazione combinata del suo andamento temporale con quello del 11-OH-9R-HHC potrebbe contribuire alla stima della tempistica di assunzione.

Particolarmente interessante è risultata la distribuzione delle concentrazioni nelle diverse matrici biologiche. Il fluido orale ha mostrato concentrazioni notevolmente superiori rispetto al sangue e all'urina nelle fasi immediatamente successive all'assunzione. Questo reperto è coerente con quanto descritto da Lucuta *L et al.* (2025), che hanno evidenziato come il fluido orale rappresenti una matrice particolarmente sensibile per il rilevamento precoce dell'HHC. Tuttavia, tale matrice presenta limiti interpretativi rilevanti, legati soprattutto alla possibile contaminazione diretta del cavo orale dopo inalazione e alla marcata variabilità individuale.

Dal punto di vista clinico, l'HHC ha determinato una sintomatologia prevalentemente neurologica e cardiovascolare e neurovegetativa. I sintomi più frequentemente osservati comprendevano xerostomia, iperemia congiuntivale, cefalea, rallentamento dell'eloquio, rallentamento motorio, alterazioni visive e aumento dell'appetito, manifestazioni ampiamente sovrapponibili a quelle riportate per il Δ^9 -THC. Parallelamente, è stata osservata una riduzione della pressione arteriosa diastolica, associata ad incremento compensatorio della frequenza cardiaca, quadro compatibile con un effetto vasodilatatorio periferico mediato dall'attivazione del sistema endocannabinoide. Sul piano temporale, gli effetti acuti si sono manifestati prevalentemente nella prima ora successiva all'assunzione, con massima espressione tra i 20 e i 30 minuti, in corrispondenza del picco ematico del 9R-HHC. La saturazione di ossigeno si è mantenuta stabile in tutti i soggetti, senza evidenza di un coinvolgimento respiratorio acuto significativo. Nella fase tardiva (3–6 ore), è stato osservato l'aumento dell'appetito in alcuni partecipanti, mentre tra le 10 e le 24 ore alcuni soggetti hanno segnalato disturbi gastrointestinali e astenia, verosimilmente correlati all'azione dei metaboliti attivi, in particolare il 11-OH-HHC, sulla motilità gastrointestinale. Tali manifestazioni devono tuttavia essere interpretate con prudenza, non essendo possibile, sulla base del presente campione, stabilire un rapporto causale certo né definire il contributo specifico dei singoli metaboliti.

Merita particolare attenzione il fatto che, nonostante la numerosità ridotta del campione, ben due soggetti abbiano mostrato un andamento clinico e farmacocinetico peculiare. Il soggetto 7, di sesso femminile, ha sviluppato severa ipotensione, nausea, vertigini, visione offuscata e lipotimia, rendendo necessaria l'interruzione anticipata della sperimentazione. Il soggetto 4, anch'esso di sesso femminile, ha mostrato concentrazioni ematiche di 9R-HHC e 9S-HHC nettamente superiori rispetto agli altri partecipanti e una sintomatologia più intensa. Sebbene non sia possibile stabilire con certezza i meccanismi responsabili di tali risposte, questi episodi confermano che possono verificarsi reazioni clinicamente rilevanti anche in soggetti giovani e apparentemente sani. La marcata variabilità interindividuale rappresenta pertanto uno degli aspetti più critici nella valutazione della sicurezza dell'HHC. Le differenze osservate potrebbero essere influenzate da fattori farmacocinetici individuali, modalità di inalazione, abitudine tabagica, composizione

corporea, variabilità metabolica o differenze nell'espressione recettoriale. Tuttavia, alla luce del limitato numero di soggetti arruolati, tali ipotesi devono essere considerate esclusivamente speculative e richiedono ulteriori conferme sperimentali.

Nel complesso, i risultati ottenuti indicano che l'HHC possiede un profilo farmacologico non trascurabile. La rapidità di assorbimento, la predominanza dell'epimero 9R-HHC, la presenza di metaboliti persistenti e l'elevata variabilità individuale suggeriscono che questa sostanza condivida diverse caratteristiche farmacologiche e tossicologiche con i cannabinoidi classici. Tali osservazioni risultano particolarmente rilevanti in considerazione della diffusione commerciale dell'HHC e della frequente percezione di questa sostanza come alternativa più sicura rispetto al Δ^9 -THC, percezione che le evidenze attualmente disponibili non consentono di confermare.

5.2. Confronto con i dati presenti in letteratura

Al fine di contestualizzare i risultati ottenuti dal presente studio, è stato effettuato un confronto con le evidenze disponibili in letteratura riguardante gli effetti farmacocinetici, tossicologico-analitici e clinici dell'HHC e dei principali cannabinoidi semisintetici strutturalmente correlati. Nonostante le conoscenze sull'HHC siano ancora limitate, i dati pubblicati negli ultimi anni consentono di individuare alcuni elementi ricorrenti, in particolare per quanto riguarda la stereoselettività degli epimeri, la distribuzione nelle matrici biologiche, la rilevabilità dei metaboliti e la variabilità della risposta clinica.

Il primo punto di convergenza tra i risultati emersi dal presente studio e la letteratura analizzata riguarda la diversa rilevanza farmacocinetica degli epimeri dell'HHC. Nello studio, il 9R-HHC ha raggiunto concentrazioni ematiche medie-superiori al 9S-HHC, con picco medio pari a 30,02 ng/mL a 20 minuti dall'inalazione, rispetto a 13,03 ng/mL per il 9S-HHC. Tale andamento è coerente con quanto riportato da *Lucuta L et al.* (2025), che hanno documentato una predominanza del 9R-HHC dopo somministrazione sia inalatoria, sia orale, e da *Höfert L et al.* (2025), che hanno osservato rapporti 9R/9S superiori dopo entrambe le vie di assunzione. *Kronstrand R et al.* (2024), analizzando 145 campioni ematici provenienti da casi di guida sotto l'influenza di droghe (DUID), hanno evidenziato la

prevalenza di metaboliti riconducibile all'epimero 9R-HHC, con metabolita predominante nel sangue 9R-COOH-HHC, seguito dal 11-OH-9R-HHC. Questi dati suggeriscono che il metabolismo dell'HHC presenta una componente stereoselettiva rilevante, con possibile maggiore contributo dell'epimero 9R al profilo farmacologico complessivo della sostanza.

La spiegazione strutturale di questa stereoselettività è stata indagata da *Chen PP et al.* (2025) mediante uno studio computazionale di molecular docking e dinamica molecolare. Gli autori hanno dimostrato che il 9R-HHC ha il gruppo metilico in C9 in posizione equatoriale nel sito attivo di CB1 e CB2, configurazione geometricamente favorevole che massimizza le interazioni idrofobiche. Il 9S-HHC, al contrario, ha il gruppo metilico in posizione assiale, determinando una minore affinità di legame. Tale dato fornisce una possibile spiegazione della maggiore attività biologica attribuita al 9R-HHC e chiarisce perché il soggetto 4 dello studio, che mostrava una concentrazione plasmatica di 118,37 ng/mL di 9R-HHC a 20 minuti (quattro volte la media), abbia manifestato la risposta clinica più severa, con ipotensione marcata e sintomi da ipoperfusione cerebrale.

Un secondo aspetto rilevante riguarda l'identificazione dei metaboliti utilizzabili come biomarcatori di esposizione. Nel presente studio, il 11-NOR-9R-COOH-HHC è risultato il metabolita più abbondante e persistente nella matrice urinaria, con picco medio a 6 ore e rilevabilità fino a 48 ore. Il 11-OH-9R-HHC, invece, ha mostrato un andamento più precoce, con picco a 3 ore e successiva riduzione. Questi dati suggeriscono che il 11-NOR-9R-COOH-HHC possa rappresentare un marcatore utile per documentare l'esposizione ad HHC in una finestra temporale più ampia, mentre il 11-OH-9R-HHC potrebbe contribuire, se valutato insieme agli altri metaboliti, alla stima di un'assunzione più recente.

Tale interpretazione è coerente con quanto riportato da *Höfert L et al.* (2025), che hanno documentato una lunga persistenza del metabolita carbossilato, con emivita mediana stimata intorno a 66 ore. Anche *Gameli PS et al.* (2026), applicando metodiche HRMS/MS a campioni urinari, hanno descritto un profilo metabolico articolato, identificando numerosi metaboliti stereoselettivi del 9R-HHC e del 9S-HHC. Questi dati confermano la necessità di pannelli analitici specifici e aggiornati, in grado di distinguere non solo l'HHC nel suo complesso, ma anche i singoli epimeri e i relativi metaboliti.

Per quanto riguarda le matrici biologiche, il fluido orale ha mostrato nel presente studio concentrazioni elevate nelle fasi immediatamente successive all'inalazione, con concentrazioni medie di 9R-HHC pari a 129,35 ng/mL a 20 minuti dall'inalazione (con un picco individuale di 451,11 ng/mL nel soggetto 5). Questa matrice si conferma quindi come la più sensibile per il rilevamento precoce dell'esposizione. Tuttavia, l'interpretazione quantitativa di questa matrice deve essere condotta con cautela, poiché le concentrazioni iniziali possono essere influenzate dalla contaminazione diretta del cavo orale durante l'inalazione. Sia *Lucuta L et al. (2025)* che *Höfert L et al. (2025)* hanno confermato l'elevata concentrazione di HHC nella saliva nelle prime fasi post-assunzione, attribuendola parzialmente a residui orali derivanti dall'inalazione. In particolare, *Höfert L et al. (2025)* hanno evidenziato che nella saliva risultano rilevabili esclusivamente i composti parentali, mentre i metaboliti sono assenti o scarsamente rappresentati. Tale dato è coerente con i risultati del presente studio, nel quale nessun metabolita è stato identificato nel fluido orale. Questo elemento sottolinea come il fluido orale sia una matrice utile nelle prime fasi successive all'assunzione, ma meno informativa per la ricostruzione del profilo metabolico. La matrice urinaria si è confermata invece particolarmente utile per documentare l'esposizione nelle ore successive all'assunzione e per la definizione di biomarcatori diagnostici, grazie alla presenza di metaboliti idrossilati e carbossilati. Il presente studio sperimentale identifica quattro metaboliti nelle urine fino a 48 ore dall'assunzione, proponendo una gerarchia funzionale basata sulla finestra temporale di rilevabilità: il 11-NOR-9R-COOH-HHC emerge come marcatore di lunga persistenza, con picco medio a 6 ore (21,53 ng/mL) e rilevabilità estesa fino a 48 ore, mentre il 11-OH-9R-HHC si candida come marcatore di esposizione recente, presente in tutti i soggetti, con picco precoce a 3 ore (3,91 ng/mL) e clearance rapida che lo rende ideale per identificare un'assunzione avvenuta nelle sottostima della reale finestra di identificazione in caso di uso ripetuto o cronico, come suggerito dalla letteratura.

Gameli PS et al. (2026), inoltre, applicando la loro metodica HRMS/MS a campioni di urina in seguito ad assunzione di HHC, confermano e ampliano significativamente questo pannello, identificando 19 metaboliti urinari totali con elevata specificità stereoselettiva: 10 specifici per il 9R-HHC, 6 per il 9S-HHC e 3 non attribuibili univocamente a un singolo

epimero. Essi propongono come biomarcatori ottimali MU1 e MU10 per il consumo di 9R-HHC e MU7 per il 9S-HHC in assenza di idrolisi enzimatica, con MU3, MU4 e MU16 come marcatori generici per l'assunzione di HHC dopo idrolisi, un pannello che integra e approfondisce i quattro metaboliti documentati nello studio sperimentale.

La matrice ematica, infine, conserva un ruolo centrale in ambito tossicologico-forense, in particolar modo nei casi in cui si rende necessario documentare un'esposizione recente in relazione a un possibile quadro clinico o funzionale. Tuttavia, come già noto per il THC, anche per l'HHC la concentrazione ematica non consente, da sola, di definire con certezza il grado di compromissione psicofisica. La valutazione deve quindi integrare dati analitici, tempo trascorso dall'assunzione, quadro clinico, eventuali segni di impairment e caratteristiche della matrice esaminata.

Un ulteriore elemento di rilievo riguarda i limiti dei test immunologici di screening. *Lucuta L et al.* (2025) hanno evidenziato che i comuni test progettati per il THC possono mostrare reattività crociata parziale e non prevedibile con l'HHC. *Kronstrand R et al.* (2024), analizzando 145 campioni ematici da casi DUID, confermano su casistica reale che il 9R-COOH-HHC è il metabolita ematico predominante dopo assunzione di HHC, con una cross-reattività del 120% con il saggio ELISA per cannabinoidi e del 48% per il 9S-COOH-HHC. Questo dato spiega strutturalmente due fenomeni convergenti: da un lato i falsi positivi per THC nei casi DUID documentati in Svezia, dove in 22% dei casi il consumo era attribuibile a HHC piuttosto che a THC; dall'altro la confusione diagnostica descritta in tutti i case report di intossicazione riportati dalla letteratura, dove lo screening immunologico standard non permetteva di distinguere tra esposizione a THC e a HHC, indirizzando erroneamente la diagnosi. *Helander A. et al.* (2024) completano e quantificano questo quadro segnalando che in Svezia, dopo la diffusione dell'HHC sul mercato, la frequenza di falsi positivi ai test immunologici per THC nel fluido orale e per THC-COOH nelle urine è aumentata da meno del 2% a oltre il 10%, con concentrazioni di HHC-COOH nelle urine di screening fino a 205 µg/L. In sintesi, *Kronstrand R et al.* (2024) e *Helander A et al.* (2024) hanno documentato come i metaboliti dell'HHC possano interferire con alcuni test di screening per cannabinoidi, determinando possibili risultati falsamente attribuiti al THC. Questo aspetto è di particolare importanza in ambito clinico, forense e di sicurezza stradale, poiché un risultato

immunologico positivo non consente di identificare con certezza la sostanza assunta e richiede conferma mediante metodiche cromatografiche specifiche.

Dal punto di vista clinico, la sintomatologia acuta osservata nel presente studio, appare sostanzialmente coerente con quanto riportato in letteratura. Nei volontari sono stati osservati xerostomia, iperemia congiuntivale, cefalea variabile, rallentamento dell'eloquio e motorio, alterazioni visive, aumento dell'appetito e, in alcuni casi, disturbi gastrointestinali e astenia. Tali manifestazioni presentano una parziale sovrapposizione con gli effetti descritti per il Δ^9 -THC e con i quadri clinici associati ad altri cannabinoidi semisintetici. *Čečrle M et al.* (2025), analizzando 196 casi di intossicazione da HHC e HHC-P, hanno descritto una presenza di sintomi neurologici (nel 74% dei casi sonnolenza, tremore, vertigini, rallentamento motorio, confusione), cardiovascolari (nel 43,1% tachicardia, palpitazioni, ipotensione), oftalmologici (nel 24,9%) e gastrointestinali (nel 42,6%). Analogamente *Labadie M et al.* (2024), in uno studio su 37 casi segnalati ai centri antiveneni francesi, hanno riportato sintomi neurologici nell'85% dei casi, cardiovascolari nel 61% e gastrointestinali nel 33%. Il presente studio, pur condotto su un campione molto più limitato e in condizioni controllate, mostra un profilo sintomatologico complessivamente compatibile con tali osservazioni.

Anche il timing sintomatologico appare coerente con i dati presenti in letteratura. Nel presente studio, la sintomatologia acuta si è manifestata prevalentemente entro i primi 20–30 minuti dall'inalazione, in corrispondenza del picco ematico dell'epimero 9R-HHC.

Höfert L et al. (2025), mediante test psicofisici standardizzati hanno osservato deficit psicomotori più significativi a 30 minuti dall'inalazione con miglioramento a 90 minuti. Questo parallelismo temporale riflette il meccanismo farmacodinamico documentato nel presente studio e rafforza l'ipotesi che l'HHC possa determinare effetti acuti rapidamente ingravescenti dopo assunzione inalatoria, con possibile rilevanza per attività che richiedono integrità psicofisica, come la guida di veicoli o l'utilizzo di macchinari.

Janssens L et al. (2024) hanno ipotizzato la base farmacologica di questo meccanismo, dimostrando che il 9R-HHC ha potenza (EC_{50}) e efficacia (E_{max}) superiori al 9S-HHC nel reclutamento della β -arrestina2 al recettore CB1, confermando che la composizione epimerica del prodotto influisce direttamente sulla bioattività complessiva

della miscela. La stessa affinità recettoriale può rappresentare un rischio potenziale di abuso potenzialmente superiore a quello della cannabis tradizionale.

La stabilità della SpO₂ in tutti i soggetti dello studio clinico, che esclude l'evidenza di un coinvolgimento respiratorio acuto significativo, è coerente con i dati degli studi di auto-somministrazione controllata di Höfert *L et al.* (2025) e Lucuta *L et al.* (2025), nei quali non sono state descritte alterazioni rilevanti della funzione respiratoria. Tuttavia, in letteratura sono riportati quadri più severi associati ad analoghi strutturali, quali HHC-P, HHC-C8 e HHC-C9, con compromissione dello stato di coscienza, crisi convulsive, depressione respiratoria o sintomi neuropsichiatrici prolungati [Thomsen R, 2025)].

Il caso del soggetto 7, che ha dovuto abbandonare lo studio per grave ipotensione sistemica tachicardia riflessa, nausea, cefalea, visione offuscata, vertigini e lipotimia, rappresenta un esempio di risposta individuale clinicamente significativa in condizioni controllate. In letteratura sono descritti casi di intossicazione acuta da HHC con quadri più severi, soprattutto dopo assunzione orale o esposizione a dosi non note. Zancanaro *F et al.* (2024) hanno descritto un caso di intossicazione acuta da HHC, un uomo di 54 anni che aveva ingerito un olio all'HHC sviluppando agitazione, nausea, vomito, depressione respiratoria e tachicardia con 19 ore di osservazione ospedaliera. Reiter *N et al.* (2024) hanno descritto quadri più gravi, associati ad una compromissione dello stato di coscienza prolungata (per 50 ore) con ipotensione refrattaria dopo assunzione di HHC-P; Thomsen *R et al.* (2025) hanno documentato due intossicazioni gravi da HHC-C8, la prima con coma profondo (GCS 3), crisi epilettiche e sequele cognitive persistenti a 2,5 mesi, la seconda con sonnolenza continua per 72 ore.

I case report su HHC-C9 completano il quadro: il caso di Reiter *N et al.* (2024) ha documentato compromissione cognitiva e fisica per 9 giorni dopo ingestione di biscotti con 40 mg di HHC-C9; il caso di neurotossicità dissociativa esaminato da Greene *SL et al.* (2026) ha riportato invece un uomo di 32 anni con stato dissociativo, tachicardia e linguaggio confuso risolti in 8 ore; i due pazienti descritti da Scharink *DA et al.* (2026) hanno mostrato sonnolenza profonda, bradicardia e disturbi neuropsichiatrici prolungati fino a 90 ore. Sebbene tali casi differiscano per sostanza, dose e modalità di assunzione, essi confermano l'ampia variabilità della risposta individuale ai cannabinoidi semisintetici.

Per quanto concerne l'esposizione cronica, *Thiebot P et al.* (2026) hanno descritto un caso con crisi convulsiva, rabdomiolisi con marcatori muscolari estremamente elevati e insufficienza renale acuta in un soggetto obeso e consumatore abituale di HHC da almeno tre mesi documentato dall'analisi dei capelli. La concentrazione plasmatica di HHC a 3 ore dall'episodio convulsivo era di 11 ng/mL, comparabile alle concentrazioni medie dello studio clinico a 3 ore (9R-HHC: 6,84 ng/mL) ma la rilevabilità ematica fino a 15 giorni indicava un accumulo tissutale progressivo nel grasso corporeo, analogo al noto comportamento del THC-COOH già documentato da *Höfert L et al.* (2025). L'analisi metabolomica di *Thiebot P et al.* (2026) ha rivelato interferenze sul metabolismo della fenilalanina, del ciclo di Krebs e della β -ossidazione degli acidi grassi, con alterazioni del profilo carnitina/acilcarnitine indicative di disfunzione mitocondriale.

La letteratura recente ha inoltre posto attenzione sulle possibili implicazioni neuropsichiatriche dell'HHC. *O'Mahony B et al.* (2024) hanno descritto i primi due casi di psicosi acuta associati all'uso di HHC in consumatori abituali di cannabinoidi: il primo aveva deliri persecutori, allucinazioni uditive, ideazione autolesiva e dissociazione dopo due mesi di vaping quotidiano di HHC; il secondo ha richiesto l'ospedalizzazione in due occasioni in seguito a psicosi, la prima dovuta a consumo di THC mentre la seconda dovuta a assunzione di HHC. Uno studio successivo del medesimo gruppo di ricerca condotto su 214 ricoveri per psicosi all'University Hospital Galway ha evidenziato che il 13,1% era preceduto da uso di HHC, con l'HHC come seconda causa di psicosi da sostanze dopo la cannabis e una prevalenza del 34% nei primi episodi psicotici. Questi dati non consentono di stabilire un rapporto causale definitivo, ma suggeriscono l'opportunità di includere l'HHC nell'anamnesi tossicologica e nei pannelli analitici nei casi di alterazione acuta dello stato mentale.

La figura 6 mostra il tasso di ammissione per malattie psicotiche per ogni trimestre del periodo registrato (blu), e mette in evidenza quelle precedute da assunzione di HHC (rosso).

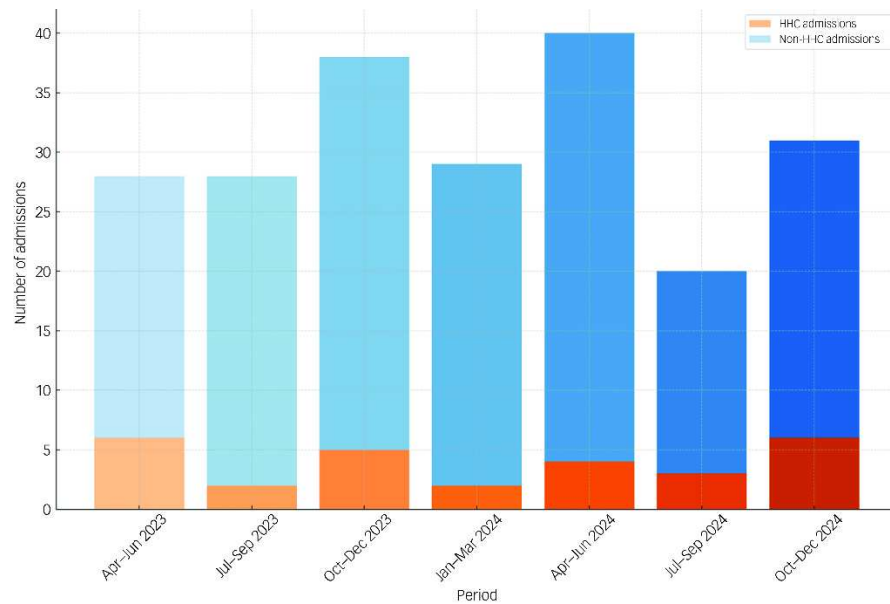


Figura 6: Ammissioni per trimestre di malattie psicotiche e quelle precedute dall'assunzione di esaidrocannabinolo. HHC, esaidrocannabinolo [O'Mahony B, 2024].

La rilevanza di sanità pubblica dell'HHC emerge anche dalle modalità di commercializzazione e dalla facilità di accesso ai prodotti contenenti cannabinoidi semisintetici. Lo studio di Čečrle M *et al.* (2025) ha evidenziato casi di esposizione anche in soggetti minorenni, talora attraverso prodotti alimentari contenenti HHC o derivati (il 19% dei 196 casi cechi riguardava minori sotto i 15 anni, con 12 bambini in età prescolare, esposti attraverso prodotti confezionati come caramelle e dolci venduti in distributori automatici nei centri commerciali, uno dei quali, di 6 anni, ha manifestato tachicardia estrema, fino a 161 battiti al minuto, e sintomi neurologici severi). Lo studio di Mongan D *et al.* (2025), nell'ambito dell'European Web Survey on Drugs condotto in Irlanda ha documentato che il 36,2% degli intervistati che avevano consumato droghe nell'anno precedente aveva utilizzato HHC nel corso della vita, con il 61,5% che citava la facilità di acquisto nei negozi come principale motivazione all'inizio del consumo. Christie R *et al.* (2026) hanno inquadrato strategicamente questo fenomeno, sottolineando come le sostanze semisintetiche spesso etichettate in modo incompleto e non corretto, possano contenere sostanze o contaminanti non dichiarati e siano commercializzate in modo da attrarre utenti più giovani o inesperti, e

come il rapido ritmo dell'innovazione del mercato renda le sfide analitiche per i laboratori forensi e tossicologici particolarmente complesse.

Tanto il presente studio quanto gli studi controllati disponibili in letteratura [Lucuta L, 2025; Höfert L, 2025] condividono i limiti della ridotta numerosità campionaria, della singola dose controllata, della limitata rappresentatività rispetto all'uso ricreativo reale, caratterizzato da prodotti non standardizzati, dosaggi variabili, possibili coassunzioni e modalità di consumo eterogenee. Per tale motivo, il contributo del presente lavoro deve essere interpretato come preliminare, ma utile a definire alcuni elementi di riferimento per futuri studi multicentrici, con campioni più ampi, stratificazione per sesso, età, caratteristiche metaboliche e protocolli di esposizione più aderenti ai contesti di utilizzo reale.

5.3. Implicazioni medico-legali e forensi

Una delle principali criticità emerse riguarda l'inadeguatezza degli strumenti diagnostici tradizionalmente impiegati per la ricerca dei cannabinoidi. I comuni test immunologici di screening non consentono infatti di distinguere in modo affidabile l'HHC dal THC, a causa della possibile cross-reattività dei rispettivi metaboliti. Come riportato da *Helander A et al.* (2024), la diffusione dell'HHC ha determinato un aumento dei risultati falsamente attribuibili al THC nei test di routine, evidenziando importanti limiti interpretativi in ambito clinico e forense. In tale contesto, un risultato positivo allo screening per cannabinoidi non permette di identificare con certezza la sostanza assunta e richiede necessariamente una conferma mediante metodiche cromatografiche avanzate. Attualmente, tecniche come UHPLC-MS/MS con separazione stereoselettiva rappresentano il riferimento analitico per l'identificazione e la quantificazione degli epimeri dell'HHC e dei relativi metaboliti.

I risultati del presente studio assumono rilievo diretto nell'ambito della sicurezza stradale e lavorativa. Nelle prime ore successive all'assunzione sono stati documentati rallentamento motorio e dell'eloquio, alterazioni visive, vertigini, ipotensione e tachicardia compensatoria, con massima espressione tra i 20 e i 30 minuti dall'inalazione. Tali manifestazioni risultano potenzialmente compatibili con una riduzione dell'idoneità alla

guida e all'esecuzione di mansioni a rischio, soprattutto nelle fasi immediatamente successive all'assunzione. Le precedenti osservazioni sono coerenti con quanto riportato da *Höfert L et al. (2025)*, che mediante test psicofisici standardizzati hanno evidenziato come l'HHC possa compromettere le capacità psicofisiche in misura comparabile al Δ^9 -THC. La valutazione forense rimane tuttavia complessa, poiché le finestre di rilevabilità biologica non coincidono necessariamente con la durata degli effetti clinici e la relazione tra concentrazione biologica e grado di compromissione funzionale non appare lineare. Ne deriva che l'interpretazione medico-legale non può basarsi esclusivamente su un dato quantitativo isolato, ma deve integrare concentrazione rilevata, matrice analizzata, tempo trascorso dall'assunzione, quadro clinico e valutazione obiettiva della performance psicomotoria.

L'accertamento forense dell'esposizione all'HHC presenta ulteriori criticità rilevanti nei controlli su strada. Il fluido orale, matrice comunemente impiegata in questo contesto, mostra concentrazioni elevate di HHC nelle fasi iniziali dopo inalazione, ma i dispositivi rapidi attualmente disponibili, come il DrugWipe® 5S, hanno dimostrato scarsa sensibilità verso questa sostanza [Lucuta L et al., 2025]. Ne consegue che, allo stato attuale, non è disponibile un test point-of-care sufficientemente affidabile per identificare il consumo di HHC durante i controlli su strada.

Particolare interesse riveste anche l'identificazione dei marcatori di esposizione. Nel presente studio, il 11-NOR-9R-COOH-HHC si è dimostrato il principale indicatore di assunzione nelle 48 ore successive, mentre il 11-OH-9R-HHC è risultato maggiormente associato alle fasi più precoci dopo l'esposizione. Come osservato da *Gameli PS et al. (2026)*, l'interpretazione tossicologica dell'HHC può essere ulteriormente migliorata attraverso l'impiego di pannelli metabolici stereoselettivi. Tuttavia, la lunga persistenza di alcuni metaboliti, documentata da *Höfert L et al. (2025)* e da *Thiebot P et al. (2026)*, impone cautela nell'interpretazione forense dei risultati analitici, poiché la positività biologica non consente di stabilire con certezza il momento dell'assunzione né il grado di compromissione clinica al momento dell'accertamento.

Un ulteriore elemento di interesse medico-legale è rappresentato dalla marcata variabilità interindividuale osservata nello studio. Alcuni soggetti hanno mostrato concentrazioni ematiche nettamente superiori rispetto al resto del campione e una

sintomatologia più intensa. In particolare, i soggetti che hanno presentato le manifestazioni cliniche più rilevanti erano di sesso femminile; tuttavia, alla luce della ridotta numerosità campionaria, questo dato non consente di formulare conclusioni sul ruolo del sesso biologico nella risposta all'HHC. Le differenze osservate potrebbero riflettere variabilità farmacocinetiche individuali, modalità di inalazione, caratteristiche metaboliche, composizione corporea o diversa sensibilità recettoriale, ma tali ipotesi richiedono ulteriori conferme sperimentali.

Dal punto di vista medico-legale, tali dati confermano la necessità di considerare l'HHC come una sostanza dotata di potenziale rilevanza clinica e forense. La possibile comparsa di effetti neuropsichici, cardiovascolari e psicomotori nelle prime ore successive all'assunzione impone particolare cautela nelle valutazioni relative alla guida, all'attività lavorativa in mansioni a rischio e, più in generale, a tutte le situazioni in cui sia richiesta piena integrità psicofisica.

Dal punto di vista psichiatrico-forense, le evidenze disponibili suggeriscono una possibile associazione tra HHC e comparsa di episodi psicotici acuti. *O'Mahony B et al.* (2024; 2025) hanno documentato una significativa frequenza di utilizzo di HHC nei soggetti ricoverati per manifestazioni psicotiche, in particolare nei primi episodi di malattia. Sebbene il rapporto causale richieda ulteriori conferme, tali osservazioni evidenziano l'importanza di includere sistematicamente l'HHC nell'anamnesi tossicologica e nella valutazione medico-legale dei pazienti con alterazioni acute dello stato mentale.

Infine, l'evoluzione normativa degli ultimi anni evidenzia le difficoltà nel regolamentare un mercato caratterizzato dalla continua comparsa di nuovi cannabinoidi semisintetici. La rapida diffusione dell'HHC e dei suoi derivati mostra la necessità di un aggiornamento costante delle tabelle ministeriali, delle metodiche analitiche e dei criteri interpretativi. L'inserimento dell'HHC nelle Tabelle delle sostanze stupefacenti ha rappresentato un importante intervento di sanità pubblica; tuttavia, come osservato da *Čečrle M et al.* (2025), il divieto di una singola molecola tende a favorire la comparsa di analoghi strutturalmente simili, spesso non ancora regolamentati.

In tale scenario, strategie normative basate su classi farmacologiche, sistemi di allerta precoce coordinati a livello europeo e aggiornamento continuo dei laboratori tossicologici, rappresentano gli strumenti più efficaci per affrontare l'evoluzione del fenomeno.

5.4. Criticità metodologiche e limiti dello studio

Nonostante i recenti progressi nella comprensione dell'HHC, gli studi disponibili presentano limiti significativi che ne ostacolano una valutazione completa e affidabile. Attualmente, la maggior parte delle ricerche si basa su campioni numericamente ridotti, spesso compresi tra 6 e 7 soggetti, una dimensione che non consente di generalizzare i risultati né di definire soglie tossicologiche affidabili.

Anche il presente studio risente di tale limite, essendo stato condotto su un campione ristretto di volontari sani. È tuttavia significativo che, in una casistica così limitata, due soggetti abbiano presentato una risposta clinica e farmacocinetica più marcata rispetto agli altri partecipanti. Questo dato evidenzia l'elevata variabilità interindividuale nella risposta all'HHC e suggerisce la necessità di approfondire il profilo di sicurezza della sostanza in studi più ampi e strutturati.

Le elevate deviazioni standard (SD) e gli errori standard (SE) osservati per alcune concentrazioni di HHC e dei suoi metaboliti (come 9 α -OH-HHC e 11-NOR-9R-COOH-HHC), unitamente alla presenza di valori individuali particolarmente elevati, confermano l'esistenza di una rilevante variabilità farmacocinetica. Tale variabilità potrebbe dipendere da differenze nell'assorbimento, nella modalità di inalazione, nella distribuzione tissutale, nel metabolismo epatico e nei processi di eliminazione. In contesti non controllati, nei quali dose, composizione del prodotto e modalità di assunzione possono essere estremamente variabili, questa imprevedibilità potrebbe tradursi in effetti clinici difficilmente prevedibili.

Un ulteriore limite è rappresentato dal disegno sperimentale basato su una singola somministrazione controllata. Tale condizione consente di descrivere l'andamento farmacocinetico e clinico dell'HHC dopo esposizione acuta, ma non permette di valutare gli effetti dell'uso ripetuto, dell'accumulo tissutale, della tolleranza, della dipendenza o della tossicità cronica. Non sono inoltre disponibili, sulla base del presente protocollo, dati

sufficienti per definire il rapporto dose-risposta o per stabilire eventuali soglie di rischio clinico.

La continua introduzione sul mercato di nuove sostanze psicoattive, spesso caratterizzate da modifiche chimiche minime ma potenzialmente in grado di alterare le proprietà farmacologiche e metaboliche delle molecole, rappresenta una criticità ulteriore. Tale fenomeno rende difficile l'identificazione attraverso le metodiche di laboratorio tradizionali e richiede un continuo aggiornamento delle tecniche analitiche e una stretta collaborazione tra ricerca, clinica, tossicologia forense e autorità regolatorie al fine di garantire una risposta efficace e tempestiva. La disponibilità di strumenti diagnostici avanzati per identificare l'HHC e i suoi metaboliti, come la LC-MS/MS o la UPHLC-MS/MS, inoltre è ancora limitata a laboratori specializzati. Questo aspetto può rendere complessa una diagnosi accurata e tempestiva in ambito clinico e può ridurre la capacità di rilevare, confermare e studiare i casi di esposizione o intossicazione, soprattutto nei centri minori o periferici.

Criticità ulteriori che emergono anche dalla raccolta della casistica clinica. Le manifestazioni cliniche associate all'assunzione di HHC sono estremamente eterogenee, spaziando da sintomi lievi e transitori a quadri più rilevanti sul piano neurologico, cardiovascolare e neuropsichiatrico. Tale variabilità rende complesso raccogliere dati uniformi e confrontabili.

Un altro limite riguarda la possibile difficoltà di correlare temporalmente l'esposizione alla comparsa dei sintomi, soprattutto nei casi reali di consumo ricreativo, nei quali il soggetto può non conoscere dose, composizione del prodotto, presenza di altri cannabinoidi o contaminanti e tempo esatto di assunzione. Questo può determinare una sottostima del fenomeno, ritardi diagnostici o interpretazioni non corrette dei risultati laboratoristici.

A ciò si aggiunge la scarsa formazione del personale sanitario sui cannabinoidi semisintetici emergenti e, più in generale, sulle nuove sostanze psicoattive, che spesso non riconosce tempestivamente i sintomi o li attribuisce erroneamente ad altre sostanze o ad altre condizioni patologiche, soprattutto quando i comuni test tossicologici di screening risultano

negativi o non consentono di distinguere HHC da THC. Questo dato conferma la necessità di una maggiore formazione clinica e tossicologica sulle nuove sostanze psicoattive.

Infine, non sono attualmente disponibili informazioni sufficienti sulla tossicità cronica dell'HHC, sugli effetti collaterali a lungo termine, sulle conseguenze dell'esposizione ripetuta e sui possibili rischi in popolazioni vulnerabili, quali adolescenti, soggetti con patologie psichiatriche, pazienti cardiopatici, consumatori abituali di cannabinoidi o soggetti in politerapia farmacologica. Tali limiti confermano la necessità di ulteriori indagini cliniche, tossicologiche e forensi.

5.6. Prospettive future di ricerca

Le criticità emerse dall'analisi dello stato attuale delle conoscenze sull'HHC delineano alcune priorità per la ricerca futura. Sul piano metodologico, sarà indispensabile superare i limiti degli studi attualmente disponibili attraverso trial clinici multicentrici e longitudinali, condotti su campioni più ampi e adeguatamente caratterizzati. Tali studi dovrebbero prevedere una stratificazione dei soggetti in base a variabili biologiche e cliniche rilevanti, tra cui sesso, età, composizione corporea, abitudine tabagica, assetto metabolico e possibili polimorfismi degli enzimi coinvolti nel metabolismo dei cannabinoidi.

Allo stesso tempo appare necessario sviluppare e validare su scala clinica metodiche analitiche ad elevata specificità, in grado di identificare e quantificare HHC, i suoi epimeri e i relativi metaboliti nelle diverse matrici biologiche. Un ulteriore ambito di ricerca riguarda l'identificazione di biomarcatori affidabili di esposizione e di assunzione recente. In particolare, metaboliti come 11-NOR-9R-COOH-HHC e 11-OH-9R-HHC potrebbero assumere un ruolo rilevante nell'interpretazione della tempistica di assunzione, ma richiedono ulteriori studi per definirne finestre di rilevabilità, emivita, significato tossicologico e possibile correlazione con gli effetti clinici.

Altrettanto importante appare la necessità di colmare le lacune relative al potenziale di abuso della molecola, mediante studi sistematici sui meccanismi di dipendenza, tolleranza, craving e rinforzo, integrati da programmi di farmacovigilanza a lungo termine.

In parallelo, saranno necessari studi prospettici su popolazioni cliniche vulnerabili, in particolare adolescenti, soggetti con disturbi psichiatrici, pazienti con primo episodio psicotico o in fase prodromica, soggetti cardiopatici e individui in politerapia farmacologica. Queste categorie potrebbero presentare una maggiore suscettibilità agli effetti neuropsichici, cardiovascolari o tossicologici dei cannabinoidi semisintetici.

Un ulteriore settore di interesse riguarda la valutazione degli effetti dell'uso ripetuto e cronico. Il presente studio consente di descrivere l'esposizione acuta a singola dose, ma non permette di definire il rischio di accumulo tissutale, tossicità cronica, alterazioni cognitive persistenti o interazioni farmacologiche. Studi longitudinali con follow-up prolungato saranno quindi necessari per comprendere il profilo di sicurezza dell'HHC nel tempo.

Infine, il monitoraggio continuo del mercato ricreativo, affiancato da modelli predittivi *in silico* e *in vitro* per la caratterizzazione dei nuovi analoghi semisintetici, dovrà procedere di pari passo con l'elaborazione di strategie regolatorie basate sull'evidenza scientifica. La rapida comparsa di nuove molecole rende infatti necessario un sistema integrato di sorveglianza, capace di coinvolgere laboratori tossicologici, centri antiveleni, servizi clinici, autorità regolatorie e organismi di allerta precoce.

Solo l'integrazione sinergica tra ricerca, pratica clinica, tossicologia forense, regolamentazione e comunicazione scientifica potrà garantire una risposta efficace e proporzionata alle sfide poste dall'HHC e dagli altri cannabinoidi emergenti.

CONCLUSIONI

6.1. Sintesi delle principali evidenze emerse

Il presente studio ha consentito di caratterizzare il profilo farmacocinetico, clinico e tossicologico dell'esaidrocannabinolo (HHC) dopo assunzione controllata di una dose standardizzata di 25 mg in sette volontari sani. La scelta di analizzare simultaneamente tre matrici biologiche (sangue, urina e fluido orale) risponde all'esigenza di valutare quale di esse offra la migliore sensibilità analitica nelle diverse fasi cinetiche post-assunzione, con implicazioni dirette per la definizione di protocolli diagnostici applicabili sia in ambito clinico che forense.

Sul piano farmacocinetico, i risultati hanno evidenziato un rapido assorbimento della sostanza, con raggiungimento delle concentrazioni ematiche massime entro i primi 20 minuti e comparsa precoce degli effetti clinici. L'HHC ha mostrato un metabolismo in parte analogo a quello del Δ^9 -THC, con formazione prevalente di metaboliti carbossilati e idrossilati.

È stata osservata una marcata stereoselettività farmacocinetica, con predominanza dell'epimero 9R-HHC rispetto al 9S-HHC nella maggior parte delle matrici biologiche analizzate. Nei campioni ematici le concentrazioni medie di picco sono risultate pari a 30,02 ng/mL per il 9R-HHC contro 13,03 ng/mL per il 9S-HHC.

Il fluido orale si è rivelato la matrice a più elevata sensibilità analitica nella fase acuta, con concentrazioni medie di 9R-HHC fino a 129,35 ng/mL a 20 minuti. Tuttavia, l'assenza di metaboliti rilevabili in questa matrice e la possibile contaminazione diretta del cavo orale dopo inalazione ne limitano l'utilità al solo rilevamento dell'esposizione recente. Le urine hanno offerto la finestra di rilevanza più ampia, con quattro metaboliti identificati e quantificati fino a 48 ore dall'assunzione. In particolare il 11-NOR-9R-COOH-HHC è risultato il metabolita più abbondante e persistente, proponendosi come possibile marcatore di esposizione a finestra temporale più ampia (picco a 6 ore, 21,53 ng/mL, rilevabile fino a 48 ore). Il 11-OH-9R-HHC, invece, per il suo andamento più precoce, potrebbe contribuire alla valutazione di un'assunzione recente (picco a 3 ore, 3,91 ng/mL, clearance rapida), soprattutto se interpretato insieme agli altri metaboliti e alla matrice biologica analizzata.

La variabilità interindividuale rappresenta uno degli elementi più rilevanti emersi dallo studio. A parità di dose e modalità di assunzione, sono state osservate differenze significative nelle concentrazioni biologiche e nella risposta clinica. Tale dispersione potrebbe essere attribuibile a diversi fattori, tra cui modalità individuale di inalazione, caratteristiche metaboliche, composizione corporea, abitudine tabagica e variabilità della sensibilità recettoriale. Tuttavia, tali ipotesi richiedono conferma in studi condotti su campioni più ampi.

Dal punto di vista clinico, gli effetti osservati sono stati prevalentemente neurologici, cardiovascolari e neurovegetativi, con comparsa di xerostomia, iperemia congiuntivale, cefalea, rallentamento psicomotorio, alterazioni visive, ipotensione e tachicardia. La sintomatologia acuta ha esordito prevalentemente tra i 20 e i 30 minuti, in corrispondenza del picco ematico del 9R-HHC, e si è risolta entro le 3–6 ore successive. La saturazione di ossigeno è rimasta stabile in tutti i partecipanti. Nella fase tardiva sono stati documentati aumento dell'appetito, diarrea e spossatezza, e disturbi del transito gastrointestinale al follow-up a 7 giorni e un mese. In un soggetto si è verificata una reazione avversa clinicamente rilevante, caratterizzata da ipotensione severa, tachicardia riflessa, nausea, vertigini, visione offuscata e lipotimia, con conseguente necessità di interruzione anticipata dello studio. Tale episodio, insieme alla sintomatologia più intensa osservata in un altro partecipante, conferma la necessità di interpretare con cautela il profilo di sicurezza dell'HHC, anche in condizioni controllate e in soggetti apparentemente sani.

6.2. Rilevanza clinica, farmacologica e tossicologica dello studio

I risultati ottenuti confermano che l'HHC è un cannabinoide dotato di una rilevante attività farmacologica e tossicologica, con caratteristiche sovrapponibili a quelle del Δ^9 -THC. Il profilo di effetti avversi documentato, comprendente manifestazioni cardiovascolari, neurologiche, visive e gastrointestinali, indica che l'assunzione di HHC può determinare effetti clinicamente significativi anche dopo assunzione di singola dose controllata in individui giovani e sani. La reazione avversa osservata nel soggetto 7 e la clinica più marcata del soggetto 4, in una coorte numericamente limitata, testimoniano la concreta possibilità di eventi avversi severi e non trascurabili e confermano la necessità di ulteriori approfondimenti

sul profilo di sicurezza della sostanza. Tale aspetto assume particolare rilievo nei contesti di uso ricreativo, nei quali dose, composizione del prodotto, rapporto tra epimeri, purezza e presenza di eventuali contaminanti non sono generalmente noti o standardizzati.

La stereoselettività del metabolismo a favore del 9R-HHC, la maggiore rappresentazione di questo epimero nelle matrici biologiche e la sua possibile maggiore attività biologica suggeriscono che esso possa contribuire in modo rilevante agli effetti farmacologici della miscela. Ne consegue che lo studio della composizione epimerica dei prodotti contenenti HHC risulta fondamentale per comprendere sia gli effetti clinici sia le implicazioni tossicologiche della sostanza.

Lo studio evidenzia inoltre criticità di particolare interesse medico-legale e forense. Sul piano diagnostico, lo studio ha dimostrato che solo metodiche cromatografiche dedicate con separazione stereoselettiva, come la UHPLC-MS/MS, consentono l'identificazione affidabile di HHC e dei suoi metaboliti nelle matrici biologiche. I test immunologici di screening, invece, possono risultare insufficienti o fuorvianti, soprattutto per la possibile cross-reattività con i cannabinoidi tradizionali.

In aggiunta, come per altri cannabinoidi, la presenza di HHC o dei suoi metaboliti in una matrice biologica documenta l'esposizione alla sostanza, ma non consente, da sola, di definire con certezza il grado di impairment al momento dell'accertamento. L'interpretazione deve quindi integrare dato analitico, matrice esaminata, tempo trascorso dall'assunzione, quadro clinico e valutazione funzionale del soggetto.

Nel complesso, i dati raccolti indicano che l'HHC non può essere considerato un'alternativa priva di rischi alla cannabis tradizionale e che la sua assunzione può determinare effetti clinicamente rilevanti e potenzialmente incompatibili con attività che richiedono integrità psicofisica, come la guida di veicoli, l'utilizzo di macchinari o lo svolgimento di mansioni a rischio.

6.3. Considerazioni finali

L'HHC rappresenta uno dei principali cannabinoidi semisintetici emergenti e il suo crescente impiego a scopo ricreativo impone una maggiore attenzione da parte della comunità scientifica, clinica e regolatoria.

Il presente elaborato contribuisce al corpus ancora limitato delle evidenze scientifiche *in vivo* sull'HHC nell'uomo. La caratterizzazione stereoselettiva multimatrice, l'analisi dell'andamento temporale di epimeri e metaboliti, il monitoraggio clinico dei volontari e la valutazione della variabilità interindividuale rappresentano elementi utili per migliorare la comprensione del comportamento della sostanza nelle matrici biologiche umane.

Le evidenze emerse mostrano una sostanza caratterizzata da rapido assorbimento, significativa attività biologica, metabolismo complesso e marcata variabilità interindividuale, fattori che contribuiscono a rendere difficile la previsione degli effetti nei singoli soggetti, soprattutto in contesti non controllati.

Nonostante il limitato numero di partecipanti, la singola dose di sostanza e l'assenza di randomizzazione non consentano di trarre conclusioni definitive, i risultati ottenuti, considerati nel contesto delle evidenze disponibili in letteratura, suggeriscono la necessità di un approccio prudente nei confronti dell'HHC e dei cannabinoidi semisintetici correlati.

Ulteriori studi clinici e tossicologici su campioni più ampi saranno indispensabili per definire con maggiore precisione il profilo di sicurezza della sostanza, chiarire il ruolo dei singoli epimeri, identificare marcatori diagnostici affidabili, valutare gli effetti dell'uso ripetuto e supportare lo sviluppo di strategie efficaci di prevenzione, monitoraggio e regolamentazione.

Tuttavia, i dati raccolti sono già sufficienti ad affermare che l'HHC condivide con i cannabinoidi classici un profilo farmacologico e tossicologico tutt'altro che trascurabile pertanto, deve essere considerato una sostanza dotata di rilevanza farmacologica, tossicologica e medico-legale. La sua rapida diffusione commerciale, soprattutto se associata a prodotti non standardizzati e a una percezione di ridotta pericolosità, rappresenta un rischio concreto per la salute pubblica, in particolare per le fasce di popolazione più vulnerabili, e richiede un costante aggiornamento delle conoscenze scientifiche, delle metodiche analitiche e degli strumenti regolatori.

BIBLIOGRAFIA

- Appendino, G. The early history of cannabinoid research. *Rend. Fis. Acc. Lincei* 2020;31;919–929
- Bautista JL, Yu S, Tian L. Flavonoids in *Cannabis sativa*: Biosynthesis, Bioactivities, and Biotechnology. *ACS Omega*. 2021 18;6(8):5119–5123
- Benito C et al. Cannabinoid CB2 receptors and fatty acid amide hydrolase are selectively overexpressed in neuritic plaque-associated glia in Alzheimer's disease brains. *J Neurosci*. 2003;23(35):11136–41.
- Bisogno T et al. Cloning of the first *sn*1-DAG lipases points to the spatial and temporal regulation of endocannabinoid signaling in the brain. *J Cell Biol*. 2003;163(3):463–8
- Blankman JL, Cravatt BF. Chemical probes of endocannabinoid metabolism. *Pharmacol Rev*. 2013;65(2):849–71
- Bo Y, Zhao X, Li L. Cardiotoxic effects of common and emerging drugs: role of cannabinoid receptors. *Clin Sci (Lond)*. 2024;20;138(6):413–434
- Bonini SA, Premoli M, Tambaro S, et al. Cannabis sativa: A comprehensive ethnopharmacological review. *J Ethnopharmacol*. 2018;227:300–315
- Broyd SJ, van Hell HH, Beale C, Yücel M, Solowij N. Acute and chronic effects of cannabinoids on human cognition. *Neurosci Biobehav Rev*. 2016;64:346–361
- Brunetti P, Pichini S, Pacifici R, Busardò FP, Del Rio A. Herbal Preparations of Medical Cannabis: A Vademecum for Prescribing Doctors. *Medicina (Kaunas)*. 2020 May 15;56(5):237
- Busardò FP, Jones AW. Interpreting cannabinoid concentrations in biological specimens with an emphasis on the use of cannabis in driving. *Forensic Sci Int*. 2015;256:462–471
- Busardò FP, Pellegrini M, Klein J, di Luca NM. Neurocognitive Correlates in Driving Under the Influence of Cannabis. *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 2017;16(5):534–540
- Busardò FP, Pichini S, Pellegrini M, Montana A, Lo Faro AF, Zaami S, Graziano S. Correlation between Blood and Oral Fluid Psychoactive Drug Concentrations and Cognitive Impairment in Driving under the Influence of Drugs. *Current Neuropharmacol*. 2018;16(1):84–96
- Cabral GA, Ferreira GA, Jamerson MJ. Endocannabinoids and the immune system in health and disease. *Handb Exp Pharmacol*. 2015;231:185–211
- Cafaro A, Riva A, Pigliasco F, Barco S, Manca V, Pichini S, Busardò FP, Striano P, et al. Long-term plasma monitoring of THC and CBD in pediatric drug-resistant epilepsy:

- Implications for cannabidiol therapy with Epidyolex®. *Epilepsia Open*. 2025;10(5):1699-1704
- Caprari C, Ferri E, Vandelli MA, et al. Designer THC and emerging cannabinoids. *J Cannabis Res*. 2024;6:21
- Casati S, Rota P, Bergamaschi RF, et al. Hexahydrocannabinol on the light cannabis market: Biochemical and toxicological aspects. *Molecules*. 2024;29(14):3245
- Castellanos D, Thornton G. Synthetic cannabinoid use: recognition and management. *J Psychiatr Pract*. 2012;18(2):86-93
- Castillo PE et al. Endocannabinoid signaling and synaptic function. *Neuron*. 2012;76(1):70–81.
- Čečrle M, Běhouňková M, Kotíková K, Zacharov S. Hexahydrocannabinol and Hexahydrocannabiphorol Poisonings: Data From the Czech Toxicology Information Centre and Effects of Legislative Changes. *Pharmacol Res Perspect*. 2025;13(5):e70162.
- Chen PP, Duan M, Zhou Q, Liu F, Tang Y, Garg NK, et al. Origin of the Different Binding Affinities of (9*R*)- and (9*S*)-Hexahydrocannabinol (HHC) for the CB₁ and CB₂ Cannabinoid Receptors. *ACS Chem Biol*. 2025 15;20(8):2006-2013
- Christie R, Conlon R, Néfau T, Gallegos A. Semi-synthetic cannabinoids: Recent developments, analytical challenges and strategic responses. *Forensic Sci Int*. 2026;381:112823
- Cravatt BF et al. Molecular characterization of an enzyme that degrades neuromodulatory fatty-acid amides. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1996;93(26):14913–8
- Cristino L et al. Cannabinoids and the expanded endocannabinoid system in neurological disorders. *Nat Rev Neurol*. 2020;16(1):9–29
- Crocq MA. History of cannabis and the endocannabinoid system. *Dialogues Clin Neurosci*. 2020;22(3):223-228
- Devane WA et al. Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science*. 1992;258(5090):1946–9.
- Devinsky O, Cross JH, Laux L, et al. Trial of cannabidiol for drug-resistant seizures in the Dravet syndrome. *N Engl J Med*. 2017;376(21):2011-2020
- Di Forti M, Quattrone D, Freeman TP, et al. The contribution of cannabis use to variation in the incidence of psychotic disorder across Europe (EU-GEI). *Lancet Psychiatry*. 2019;6(5):427-436.
- Di Marzo V, Matias I. Endocannabinoid control of food intake and energy balance. *Nat Neurosci*. 2005;8(5):585–9

Dinh TP et al. Brain monoglyceride lipase participating in endocannabinoid inactivation. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002;99(16):10819–24.

Durydivka O, Palivec P, Gazdarica M, Mackie K, Blahos J, Kuchar M. Hexahydrocannabinol (HHC) and Δ^9 -tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC) driven activation of cannabinoid receptor 1 results in biased intracellular signaling. *Sci Rep*. 2024;22;14(1):9181

Ferretti ML, Gournay LR, Bingaman MG, Leen-Feldner EW. A Survey Study of Individuals Using Hexahydrocannabinol Cannabis Products: Use Patterns and Perceived Effects. *Cannabis Cannabinoid Res*. 2024;9(5):1385-e1394.

Fraguas-Sánchez AI, Torres-Suárez AI. Medical use of cannabinoids. *Drugs*. 2018;78(16):1665-1703

Freund TF et al. Role of endogenous cannabinoids in synaptic signaling. *Physiol Rev*. 2003;83(3):1017-66

Gameli PS, Taoussi O, Trana AD, Tronconi LP, Pichini S, Busardò FP. Human diagnostic markers for intake of semi-synthetic cannabinoids (9R)- and (9S)-hexahydrocannabinol. *Clin Chim Acta*. 2026 1;578:120480

Greene SL, Fawcett R, Castle J, Koutsogiannis Z. Dissociative-like Neurotoxicity Following Analytically Confirmed Exposure To Hexahydrocannabinol (HHC). *J Med Toxicol*. 2026;22(1):77-80.

Graziano S, Vari MR, Pichini S, Busardo FP, Cassano T, Di Trana A. Hexahydrocannabinol Pharmacology, Toxicology, and Analysis: The First Evidence for a Recent New Psychoactive Substance. *Current Neuropharmacol*. 2023;21(12):2424-2430

Grotenhermen F. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of cannabinoids. *Clin Pharmacokinet*. 2003;42(4):327-360

Hartman RL, Huestis MA. Cannabis effects on driving skills. *Clin Chem*. 2013;59(3):478-492

Helander A, Johansson M, Villén T, Andersson A. Appearance of hexahydrocannabinols as recreational drugs and implications for cannabis drug testing - focus on HHC, HHC-P, HHC-O and HHC-H. *Scand J Clin Lab Invest*. 2024 Apr; 84(2):125-132

Herkenham M et al. Cannabinoid receptor localization in brain. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1990;87(5):1932–6.

Hillard CJ et al. Meet your stress management professionals: the endocannabinoids. *Trends Mol Med*. 2020;26(10):953–68

Hoch E, Volkow ND, Friemel CM, et al. Cannabis, cannabinoids and health: a review of evidence on risks and medical benefits, *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, 2025;275:281-292

- Howlett AC. The cannabinoid receptors. *Pharmacol Rev.* 2002;54(2):161–202
- Huestis MA. Human cannabinoid pharmacokinetics. *Chem Biodivers.* 2007;4(8):1770-1804
- Ligresti A, De Petrocellis L, Di Marzo V. From Phytocannabinoids to Cannabinoid Receptors and Endocannabinoids: Pleiotropic Physiological and Pathological Roles Through Complex Pharmacology. *Physiol Rev.* 2016 Oct;96(4):1593-659
- Joseph P, Vettraino IM. Cannabis in Pregnancy and Lactation - A Review. *Mo Med.* 2020;117(5):400-405
- Kano M et al. Endocannabinoid-mediated control of synaptic transmission. *Physiol Rev.* 2009;89(1):309–80
- Khoj L, Zagà V, Amram DL, Hosein K, Pistone G, Bisconti M, Serafini A, Cammarata LM, Cattaruzza MS, Mura M. Effects of cannabis smoking on the respiratory system: A state-of-the-art review. *Respir Med.* 2024;221:107494
- Kobidze G, Sprega G, Montanari E, Taoussi O, Bambagiotti G, Fede MS, Di Trana A, Pichini S, Busardò FP, Tini A, Chankvetadze B, Faro AFL. 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. *J Pharm Biomed Anal.* 2024;15;240:115918
- Kronstrand R, Roman M, Green H, Truver MT. Quantitation of hexahydrocannabinol (HHC) and metabolites in blood from DUID cases. *J Anal Toxicol.* 2024;20;48(4):235-241
- Krotulski AJ, Mohr ALA, Kacinko SL, Logan BK. Emerging synthetic cannabinoids and analytical challenges. *J Anal Toxicol.* 2024;48(4):235-248
- Labadie M, Nardon A, Castaing N, et al. Hexahydrocannabinol poisoning reported to French Poison Centres. *Clin Toxicol.* 2024;62(2):112-119
- Lattanzi S, Trinká E, Striano P, Rocchi C, Salvemini S, Silvestrini M, Brigo F. Highly Purified Cannabidiol for Epilepsy Treatment: A Systematic Review of Epileptic Conditions Beyond Dravet Syndrome and Lennox-Gastaut Syndrome. *CNS Drugs.* 2021 Mar;35(3):265-281
- 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 Test Anal.* 2025 Mar;17(3):372-386
- Lucas CJ, Galettis P, Schneider J. The pharmacokinetics and the pharmacodynamics of cannabinoids. *Br J Clin Pharmacol.* 2018;84(11):2477-2482
- Lutz B, Marsicano G, Maldonado R, Hillard CJ. The endocannabinoid system in guiding the maturation of adult neurogenesis. *Nat Rev Neurosci.* 2015;16(9):529–43.

- Maccarrone M et al. Progesterone activates fatty acid amide hydrolase (FAAH) and breaks N-arachidonylethanolamide signaling: a possible relevant mechanism in human vascular endothelium. *Biochem Biophys Res Commun*. 2000;273(2):793–8
- Mackie K. Cannabinoid receptors as therapeutic targets. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2006;46:101–22
- Mashhoon Y, Sagar KA, Gruber SA. Cannabis Use and Consequences. *Pediatr Clin North Am*. 2019 Dec;66(6):1075-1086
- Manca A, Chiara F, Mula J, Palermi A, Maiese D, Zeaiter S, De Nicolò A, Imperiale D, De Filippis G, Vischia F, De Cori D, Cusato J, D'Avolio A. A new UHPLC-MS/MS method for cannabinoids determination in human plasma: A clinical tool for therapeutic drug monitoring. *Biomed Pharmacother*. 2022;156:113899
- Mechoulam R et al. Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. *Biochem Pharmacol*. 1995;50(1):83–90.
- Mechoulam R, Parker LA. The endocannabinoid system and the brain. *Annu Rev Psychol*. 2013;64:21-47
- Meier MH, Caspi A, Ambler A, et al. Persistent cannabis users show neuropsychological decline from childhood to midlife. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2012;109(40):E2657-E2664
- Menahem S, Busardò FP. Cannabis and the heart: myths and realities. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2020;24(19):10073-10083
- Mikhaltsevich P. Validation of a novel LC-MS-MS method for the separation and differentiation of Δ^8 - and Δ^9 -tetrahydrocannabinol isomers and their major metabolites in antemortem whole blood. *J Anal Toxicol*. 2025 Apr 12;49(4):216-223
- Millar SA, Stone NL, Yates AS, O'Sullivan SE. A systematic review on the pharmacokinetics of cannabidiol in humans. *Front Pharmacol*. 2018;9:1365
- Mongan D, Killeen N, Millar SR, Matias J, Keenan E, Galvin B. Hexahydrocannabinol (HHC) use and harms in Ireland: New findings from the 2024 *European Web Survey on Drugs*. *Int J Drug Policy*. 2025;145:105011
- Munro S, Thomas KL, Abu-Shaar M. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature*. 1993;365(6441):61–5
- Murray RM, Englund A, Abi-Dargham A, et al. Cannabis-associated psychosis: neural substrate and clinical impact. *Nat Rev Neurosci*. 2017;18(11):695-709
- Nasrallah DJ, Garg NK. Studies Pertaining to the Emerging Cannabinoid Hexahydrocannabinol (HHC). *ACS Chem Biol*. 2023;15;18(9):2023-2029

- Nasrin S, Watson CJW, Perez-Paramo YX, Lazarus P. Cannabinoid metabolites as inhibitors of major hepatic CYP450 enzymes, with implications for cannabis-drug interactions. *Clin Pharmacol Ther.* 2021;109(6):1506-1517
- Okamoto Y et al. Molecular characterization of a phospholipase D generating anandamide and its congeners. *J Biol Chem.* 2004;279(7):5298–305
- O'Mahony B, O'Malley A, Kerrigan O, McDonald C. HHC-induced psychosis: a case series of psychotic illness triggered by a widely available semisynthetic cannabinoid. *Ir J Psychol Med.* 2024;14:1-4
- O'Mahony B, Lanigan S, Lally N, O'Malley A, Smyth B, McDonald C et al. Hallahan B. Novel substance, same old problems: admissions of psychosis precipitated by hexahydrocannabinol, a widely available semi-synthetic cannabinoid. *BJPsych Bull.* 2025;10;50(2):1-6
- Pacifici R, Marchei E, Salvatore F, et al. Cannabinoid concentrations and stability in standardized preparations. *Clin Chem Lab Med.* 2017;55:1555-1563
- Page RL 2nd, Allen LA, Kloner RA, Carriker CR, Martel C, Morris AA, Piano MR, Rana JS, Saucedo JF; American Heart Association Clinical Pharmacology Committee and Heart Failure and Transplantation Committee of the Council on Clinical Cardiology; and Council on Quality of Care and Outcomes Research. Medical Marijuana, Recreational Cannabis, and Cardiovascular Health: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation.* 2020;142(10):e131-e152.
- Pergolizzi JV Jr, LeQuang JA, Bisney JF. Cannabinoid Hyperemesis. *Med Cannabis Cannabinoids.* 2018;15;1(2):73-95
- Persson M, Kronstrand R, Evans-Brown M, 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 Test Anal.* 2025 Apr;17(4):487-493
- Pertwee RG., The diverse CB1 and CB2 receptor pharmacology of three plant cannabinoids: Δ^9 -tetrahydrocannabinol, cannabidiol and Δ^9 -tetrahydrocannabivarin., *Br J Pharmacol.* 2008, 153(2):199-215
- Pichini S, Mannocchi G, Gottardi M, et al. UHPLC-MS/MS analysis of cannabinoids. *Talanta.* 2020;209:120537
- Ravi D, Ghasemiesfe M, Korenstein D, Cascino T, Keyhani S. Associations between marijuana use and cardiovascular risk factors and outcomes. *Ann Intern Med.* 2018;168(3):187-194.
- Reiter N, Linnet K, Andersen NØ, Rasmussen BS, Nielsen MK, Eriksen KR, et al. Severe poisoning with semi-synthetic cannabinoids. *Ugeskr Laeger.* 2024;9;186(37):V04240241

Reggio PH. Endocannabinoid Binding to the Cannabinoid Receptors. *Chem Phys Lipids*. 2021

Riederer AM, Campleman SL, Carlson RG, et al. Avvelenamenti acuti da cannabinoidi sintetici: 50 siti del registro del US Toxicology Investigators Consortium, 2010–2015. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2016;65:692–695.

Sagar DR, et al. Pharmacological and Toxicological Effects of Synthetic Cannabinoids. *Front Pharmacol*. 2021

Scharink DA, Hoogeveen HC, Vlot D, Zock E, Lebon A, Schol-Gelok S. Twee patiënten met een CC9-intoxicatie [Two patients with CC9 intoxication: unexpected symptoms of a novel synthetic cannabinoid]. *Ned Tijdschr Geneeskd*. 2026;31;170:D8810

Schirmer W, Walton SE, Weinmann W, Schürch S, Logan BK, Krotulski AJ. Rapid LC-QTOF-MS screening method for semi-synthetic cannabinoids in whole blood. *J Anal Toxicol*. 2026;22;50(2)

Simonetto DA, Oxentenko AS, Herman ML, Szostek JH. Cannabinoid hyperemesis: A case series of 98 patients. *Mayo Clin Proc*. 2012;87(2):114-119

Sorensen CJ, DeSanto K, Borgelt L, Phillips KT, Monte AA. Cannabinoid Hyperemesis Syndrome: Diagnosis, Pathophysiology, and Treatment. *J Med Toxicol*. 2017;13(1):71-87

Spindle TR, Cone EJ, Schlienz NJ, et al. Pharmacokinetics of cannabis brownies: A controlled examination of Δ^9 -THC and metabolites in blood and oral fluid. *J Anal Toxicol*. 2020;44(2):102-113

Suriaga A, Tappen RM, Aston ER, Chiang-Hanisko L, Newman D. Cannabinoids and synthetic cannabinoids as a cause of death: Trends and their healthcare implications. *J Nurs Scholarsh*. 2023;55(3):623-636

Tait RJ, Caldicott D, Mountain D, Hill SL, Lenton S. A systematic review of adverse events arising from the use of synthetic cannabinoids. *Drug Test Anal*. 2016;8(7):875-889

Thiebot P, Magny R, Willeman T, Boudin C, Brègère M, Eysseric H, Mégarbane B, Auzeil N, Labat L. Hexahydrocannabinol-induced rhabdomyolysis and acute kidney injury: a case report combining comprehensive toxicokinetic and metabolomic investigations. *J Cannabis Res*. 2026;9

Thomas G, Kloner RA, Rezkalla S. Adverse cardiovascular, cerebrovascular, and peripheral vascular effects of marijuana inhalation. *Am J Cardiol*. 2014;113(1):187-190

Thomsen R, Axelsen TM, Løkken N, Krogh LMG, Reiter N, Rasmussen BS, Laursen EL. Prolonged sedation and unconsciousness after intoxication with the novel semisynthetic cannabinoid hexahydrocannabioctyl (HHC-C8): Two case descriptions. *Toxicol Rep*. 2025;13;14:101912

Tsou K et al. Immunohistochemical distribution of cannabinoid CB1 receptors in the rat central nervous system. *Neuroscience*. 1998;83(2):393–411. PMID 971285

United Nations Office on Drugs and Crime. UNODC EWA: New evolution of “semi-synthetic” cannabinoids. 2023

Woodhams SG et al. The endocannabinoid system and pain. *Prog Mol Biol Transl Sci*. 2015;131:35–107

Young AP, Denovan-Wright EM. The dynamic role of microglia and the endocannabinoid system in neuroinflammation. *Front Pharmacol*. 2022;12:806417

Zagzoog A, Brandt AL, Black T, Kim ED, Burkart R, Patel M, et al. Assessment of select synthetic cannabinoid receptor agonist bias and selectivity between the type 1 and type 2 cannabinoid receptor. *Sci Rep*. 2021;19;11(1):10611

Zou S, Kumar U. Cannabinoid Receptorts and the Endocannabinoid System. *Int J Mol Sci*. 2018

SITOGRAFIA

EMCDDA. Medical use of cannabis and cannabinoids: Questions and answers for policymaking. *Luxembourg: Publications Office of the European Union*; 2018 https://www.euda.europa.eu/publications/rapid-communications/medical-use-of-cannabis-and-cannabinoids-questions-and-answers-for-policymaking_en

EMCDDA, *Technical Report on HHC and Related Substances*, 2023 https://www.euda.europa.eu/publications/european-drug-report/2024_en

EUDA, *European Drug Report*, 2024 https://www.euda.europa.eu/publications/european-drug-report/2024_en

EUDA, *European Drug Report*, 2025 https://www.euda.europa.eu/publications/european-drug-report/2025_en

WHO/ECDD, *Cannabis use disorder*, 2019 <https://www.who.int/teams/health-product-and-policy-standards/controlled-substances/who-review-of-cannabis-and-cannabis-related-substances>

AGENCE NATIONALE DE SÉCURITÉ DU MÉDICAMENT ET DES PRODUITS DE SANTÉ (ANSM), <https://ansm.sante.fr/actualites/decision-du-12-06-2023-portant-modification-de-la-liste-des-substances-classees-comme-stupefiants>

BUNDESMINISTERIUM FÜR GESUNDHEIT (GERMAN FEDERAL MINISTRY OF HEALTH)

https://www.bundesgesundheitsministerium.de/fileadmin/Dateien/3_Downloads/Gesetze_und_Verordnungen/GuV/N/NpSG_RefE_5.AEndV.pdf

MINISTERO DELLA SALUTE (ITALIA)

<https://www.gazzettaufficiale.it/eli/id/2023/07/25/23A04164/sg>

DPR 309/90. Testo unico sugli stupefacenti

Per articoli di Janssen L., 2024 e Zancanaro F., 2024 fare riferimento a:

[Scientific Program – The International Association of Forensic Toxicologists](#)

ALLEGATI

Abbreviazioni principali:

THC = Δ^9 -tetraidrocannabinolo;

CBD = cannabidiolo;

HHC = esaidrocannabinolo;

CB1/CB2 = recettori cannabinoidi di tipo 1 e 2;

9R-HHC = 9R- esaidrocannabinolo;

9S-HHC = 9S- esaidrocannabinolo;

HHC-C8 esaidrocannabinolo con catena laterale a 8 atomi di carbonio;

HHC-C9 esaidrocannabinolo con catena laterale a 9 atomi di carbonio;

HHC-O = esacannabinotolo;

HHC-P = esaidrocannabiforolo;

CUD = Cannabis Use Disorder;

EUDA = European Union Drugs Agency;

LC-MS/MS = cromatografia liquida accoppiata a spettrometria di massa in tandem;

HRMS = spettrometria di massa ad alta risoluzione;

UHPLC-MS/MS = cromatografia liquida ultra alta prestazione accoppiata a spettrometria di massa tandem.

Ringraziamenti

Desidero ringraziare profondamente il Professor Francesco Paolo Busardò, Relatore di questa tesi, per avermi dato l'opportunità di affacciarmi nell'affascinante mondo della Medicina Legale e in particolare della Tossicologia Forense. La sua competenza nel campo ha permesso di collegare ricerca di base e applicazione clinica, offrendo una traccia preziosa per il percorso d'indagine.

La tesi affidatami ha rappresentato per me un'opportunità unica per approfondire un ambito di studio del tutto nuovo, nonché per affrontare un tema di rilevante attualità, sia dal punto di vista scientifico che sociale.

Ringrazio di cuore anche la Dottoressa Giulia Bambagiotti, Correlatrice di questa tesi, per il costante supporto, la professionalità, l'impegno e la pazienza.

Il suo contributo esperto unito alla sua attenzione e scrupolosità hanno rappresentato un significativo valore aggiunto al mio elaborato.