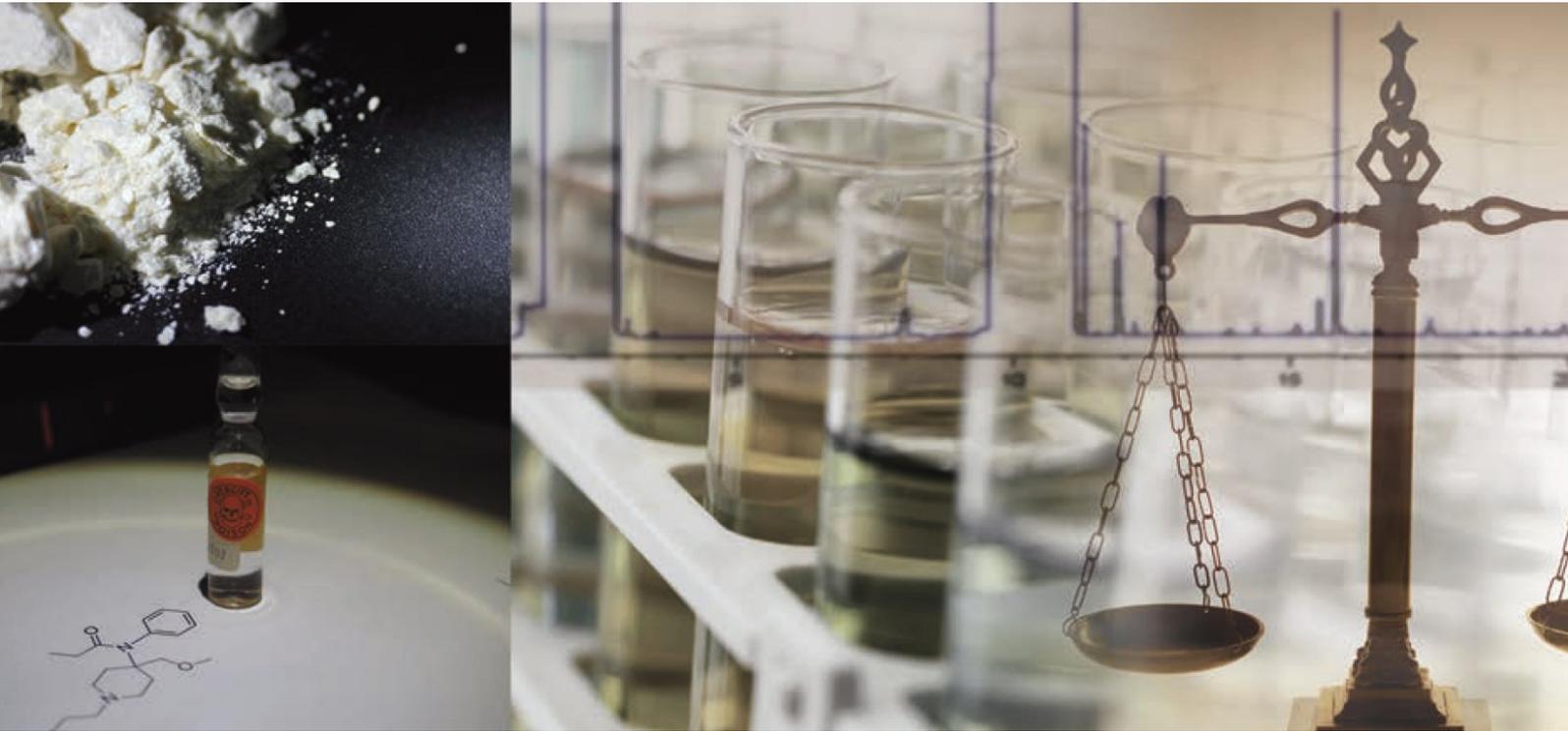




**UNODC**

United Nations Office on Drugs and Crime



# **Metodi consigliati per l'identificazione e l'analisi di Fentanil e suoi analoghi in campioni biologici**

MANUALE AD USO DEI LABORATORI NAZIONALI DI ANALISI DELLE SOSTANZE D'ABUSO

Laboratorio e Sezione Scientifica  
UFFICIO DELLE NAZIONI UNITE DROGA E CRIMINALITÀ  
Vienna

**Metodi consigliati per l'identificazione  
e l'analisi di Fentanil e suoi analoghi  
in Campioni biologici**

MANUALE AD USO DEI LABORATORI NAZIONALI  
DI ANALISI DELLE SOSTANZE D'ABUSO



**UNITED NATIONS**  
Vienna, 2017

Manuale pubblicato dall'United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC) "Recommended methods for the Identification and Analysis of Fentanyl and its Analogues in Biological Specimens (2017).

---

Traduzione e adattamento in italiano autorizzati dall'United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC).

*A cura di: Simona Pichini, Manuela Pellegrini, Silvia Graziano, Maria Rosaria Vari, Adele Minutillo, Michele Sciotti e Paolo Berretta.*

**Centro Nazionale Dipendenze e Doping, Istituto Superiore di Sanità (2024).**

## NOTA

Le condizioni operative e sperimentali sono riprodotte dal riferimento originale materiali, compresi metodi inediti, validati e utilizzati in ambito nazionale selezionato laboratori come da elenco di referenze. Una serie di condizioni alternative e la sostituzione di prodotti commerciali nominati può fornire risultati comparabili in molti casi. Tuttavia, qualsiasi modifica deve essere convalidata prima di essere integrata routine di laboratorio.

ST/NAR/53

Lingua originale: inglese

© Nazioni Unite, novembre 2017. Tutti i diritti riservati.

Le designazioni utilizzate e la presentazione del materiale in questa pubblicazione non implicano l'espressione di alcun parere da parte della Segreteria delle Nazioni Unite riguardanti lo status giuridico di qualsiasi paese, territorio, città o zona, o delle sue autorità, o riguardo alla delimitazione delle sue frontiere o dei suoi confini. La menzione di nomi di aziende e prodotti commerciali non implica l'approvazione delle Nazioni Unite. Questa pubblicazione non è stata formalmente modificata.

Produzione editoriale originale: Inglese, Sezione Editoria e Biblioteca, Nazioni Unite.

Ufficio di Vienna.

## **Ringraziamenti dell'edizione originale**

La Sezione Laboratorio e Scientifica dell'UNODC (LSS, guidata dal Dr. Justice Tettey) desidera esprimere il suo apprezzamento e i suoi ringraziamenti al Dr. Barry Logan, Centro per la ricerca e l'istruzione in scienze forensi, presso la Fredric Rieders Family Foundation e NMS Labs, Stati Uniti; Amanda L.A. Mohr, MSFS, Centro di medicina legale, ricerca scientifica e istruzione, presso la Fredric Rieders Family Foundation; Donna M. Papsun, MS, NMS Labs; Boris Moczula, J.D., avvocato; Meaghan Drumm, MSFS., Centro per la ricerca e l'istruzione in scienze forensi, al Fredric Fondazione della Famiglia Rieders; David Buzby, B.S., Centro per le Scienze Forensi Ricerca e Educazione, presso la Fondazione della Famiglia Fredric Rieders per la preparazione del bozza definitiva del presente manuale.

Si ringraziano per i preziosi commenti e il contributo i seguenti esperti: Catherine Copeland, M.Sc., Canadian Border Service Agency, Canada; Professor Franco Tagliaro, Università di Verona, Italia; Dr. Dimitri Gerostamoulos, Istituto Vittoriano di Medicina Forense, Australia.

La preparazione del presente manuale è stata coordinata dal Dr. Conor Crean, membro della LSS. Si ringraziano per il loro contributo la Sig.ra Tsegahiwot A. Belachew e gli altri membri UNODC.

---

## SOMMARIO

<b>1. INTRODUZIONE</b>	<b>1</b>
1.1 PREMESSA .....	1
1.2 SCOPO E USO DEL MANUALE .....	2
<b>2. ASPETTI GENERALI</b>	<b>2</b>
2.1 DEFINIZIONE DI FENTANIL E DEI SUOI ANALOGHI.....	2
2.2 NOMENCLATURA .....	11
2.3 PRODOTTI A BASE DI FENTANIL IN VERSIONE FARMACEUTICA E IN COMBINAZIONE CON ALTRE SOSTANZE	12
<b>3. ASPETTI DI SICUREZZA NELLA MANIPOLAZIONE DI REPERTI DI FENTANIL</b>	<b>13</b>
3.1 BUONE PRATICHE DI LABORATORIO .....	13
<b>4. FARMACOLOGIA E TOSSICOLOGIA DEL FENTANIL E DEI SUOI ANALOGHI</b>	<b>13</b>
4.1 PANORAMICA.....	13
4.2 MECCANISMO D'AZIONE E TOSSICITÀ.....	14
4.3 POTENZA RELATIVA DEL FENTANIL E DEI SUOI ANALOGHI .....	15
4.4 METABOLISMO .....	17
<b>5. ANALISI DEL FENTANIL E DEI SUOI ANALOGHI E DEI LORO METABOLITI IN CAMPIONI BIOLOGICI</b>	<b>21</b>
5.1 ANALITI PRIORITARI LEGATI AL FENTANIL NELLA CASISTICA ANALITICA.....	21
5.2 CONSIDERAZIONI STRUTTURALI GENERALI PER LA SELEZIONE DEI METODI ANALITICI.....	21
5.3 ACCERTAMENTI ANALITICI: .....	22
CAMPIONAMENTO E TIPOLOGIA DI CAMPIONI .....	22
<i>CAMPIONI PRELEVATI DA INDIVIDUI VIVI/DECEDUTI</i> .....	22
SANGUE/SIERO/PLASMA .....	22

L'URINA .....	23
<b>ALTRI CAMPIONI PROVENIENTI DA INDIVIDUI DECEDUTI .....</b>	<b>23</b>
TESSUTI .....	23
UMOR VITREO .....	23
STABILITÀ E CONSERVAZIONE .....	23
<b>METODI DI SCREENING PER I FENTANILI.....</b>	<b>24</b>
DOSAGGI IMMUNOCHEMICI .....	24
REATTIVITÀ CROCIATA NOTA DEGLI ANALOGHI DEL FENTANIL NEI COMUNI TEST IMMUNOLOGICI .....	24
<b>5.4 PREPARAZIONE DEL CAMPIONE .....</b>	<b>24</b>
<i>ESTRAZIONE LIQUIDO-LIQUIDO.....</i>	<i>24</i>
<i>ESTRAZIONE IN FASE SOLIDA .....</i>	<i>25</i>
<b>5.5 SCREENING IN GASCROMATOGRAFIA/SPETTROMETRIA DI MASSA (GC-MS) .....</b>	<b>26</b>
<b>5.6 SCREENING IN CROMATOGRAFIA LIQUIDA/SPETTROMETRIA DI MASSA AD ALTA RISOLUZIONE (LC- HRMS) .....</b>	<b>27</b>
<b>5.7 ANALISI MIRATA/ METODI DI CONFERMA E METODI QUANTITATIVI.....</b>	<b>28</b>
<i>CROMATOGRAFIA LIQUIDA CON RIVELAZIONE UV (HPLC/UV).....</i>	<i>28</i>
<i>GAS CROMATOGRAFIA -SPETTROMETRIA DI MASSA (GC-MS) .....</i>	<i>28</i>
<i>CROMATOGRAFIA LIQUIDA -SPETTROMETRIA DI MASSA TANDEM (LC-MS-MS) .....</i>	<i>30</i>
<i>CROMATOGRAFIA LIQUIDA-SPETTROMETRIA DI MASSA AD ALTA RISOLUZIONE.....</i>	<i>31</i>
<b>6. DATI DI RIFERIMENTO PER L'INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI TOSSICOLOGICI DEL FENTANIL E DI ANALOGHI SELEZIONATI</b>	<b>32</b>
<b>6.1 FENTANIL.....</b>	<b>32</b>

<b>6.2 3-METILFENTANIL E ALFA-METILFENTANIL.....</b>	<b>32</b>
<b>6.3 ACETILFENTANIL .....</b>	<b>32</b>
<b>6.4 BUTIRRILFENTANIL.....</b>	<b>33</b>
<b>6.5 FURANILFENTANIL .....</b>	<b>33</b>
<b>6.6 CARFENTANIL .....</b>	<b>33</b>
<b>6.7 ACRILFENTANIL.....</b>	<b>34</b>
<b>6.8 ALTRI ANALOGHI DEL FENTANIL .....</b>	<b>34</b>
<b>BIBLIOGRAFIA</b>	<b>35</b>
<b>ALLEGATO I. SINOSI DEI CASI DI INTOSSICAZIONE E DECESSI ANALITICAMENTE CONFERMATI PER LA PRESENZA DI FENTANIL E DEI SUOI ANALOGHI</b>	<b>40</b>

# 1. Introduzione

## 1.1 Premessa

Il farmacologo e chimico farmaceutico belga Paul Janssen sintetizzò il fentanil nel 1960.

All'epoca si trattava di un composto rivoluzionario, con una potenza di gran lunga superiore a quella dell'oppioide naturale morfina e con un margine di sicurezza significativamente maggiore rispetto ad altri oppioidi sintetici farmaceutici come le sostanze destromoramide, meperidina e fenoperidina.

Sotto la supervisione di Janssen, uno studio più approfondito delle relazioni struttura/attività portò allo sviluppo di analgesici molto potenti e strutturalmente analoghi al fentanil come sufentanil, alfentanil, lofentanil e carfentanil, che potevano essere utilizzati anche in procedure di anestesia [1].

Queste sostanze furono utilizzate con successo in ambito clinico per oltre cinquant'anni e hanno reso possibili interventi chirurgici complessi oltre ad essere impiegati nella gestione del dolore cronico su milioni di pazienti in tutto il mondo. Il fentanil, insieme alla codeina, al metadone e alla morfina, è un oppioide analgesico inserito nell'elenco dei farmaci essenziali dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) [2].

Nel 1979, in California, negli Stati Uniti, si verificò una serie di decessi in persone che si iniettavano un analogo del fentanil, l'alfa-metilfentanil.

Inizialmente creato e brevettato da Janssen [3], la sicurezza e l'efficacia dell'alfa-metilfentanil non fu testata nell'uomo e la sostanza non fu approvata come farmaco [4,5]. Questo fu il primo caso noto di un oppioide sintetizzato clandestinamente che si guadagnò il soprannome di "designer drug".

Nei primi anni '80 l'alfa-metilfentanil fu rapidamente affiancato da una serie di altri analoghi del fentanil, come le sostanze para-fluorofentanil, 3-metilfentanil, beta-idrossifentanil, oltre a una serie di altre sostanze identificate, successivamente, in casi di decesso verificatisi negli Stati Uniti.

Successivamente, l'utilizzo dello stesso fentanil si diffuse in tutto il mondo, grazie alla sua disponibilità sotto forma di iniettabili, sublinguali e cerotti transdermici, diventando anche oggetto di misuse e di diversione oltre che di abuso.

Ci sono stati casi isolati in cui il fentanil e i suoi analoghi furono miscelati con l'eroina nello spaccio di strada, come nel prodotto "Tango and Cash" venduto a New York nel 1991, che causò intossicazioni con necessità di ricovero e decessi.

A partire dal 2012, il "problema fentanil" ha iniziato a manifestarsi anche in Europa [6,7].

All'inizio del 2014 negli Stati Uniti la disponibilità di questa sostanza è aumentata in modo esponenziale [8]: da più di 4.500 segnalazioni registrate nel 2014 nei laboratori di criminologia a oltre 14.400 segnalazioni nel 2015

Nello stesso periodo, analoghi del fentanil, come l'acetilfentanil e il butirrilfentanil, comparirono nello spaccio di strada come nuove sostanze psicoattive (NSP).

Nel 2017, 15 analoghi del fentanil e due precursori chimici furono posti sotto controllo internazionale e più di 20 differenti fentanili furono individuati in casi di decesso.

Queste sostanze vengono individuate in maniera routinaria nei traffici di sostanze stupefacenti in Europa e in Nord America, e molte altre sono state riscontrate in circostanze più sporadiche e isolate, insieme ad altri agonisti dei recettori oppioidi non collegati alla morfina o al fentanil.

A causa della loro potenza e tossicità in caso di sovradosaggio, della facilità con cui possono essere sintetizzati e distribuiti e della loro ampia diffusione nei mercati internazionali, questo manuale è stato preparato per

assistere i laboratori di sanità pubblica, forensi e clinici nell'identificazione, nell'analisi e nella quantificazione dei nuovi analoghi del fentanil rinvenuti nei casi di overdose, di intossicazione e nelle indagini sui casi di decesso.

## **1.2 Scopo e uso del manuale**

Il presente manuale fa parte di una raccolta di pubblicazioni similari dell'Ufficio delle Nazioni Unite per il controllo della droga e la prevenzione del crimine (UNODC) che trattano l'identificazione e l'analisi di vario genere di sostanze stupefacenti sotto controllo internazionale.

Questi manuali sono il risultato di un programma portato avanti dall'UNODC fin dai primi anni '80, volto all'armonizzazione e alla realizzazione di metodi di analisi raccomandati per i laboratori di analisi nazionali delle sostanze stupefacenti. Il presente manuale è il primo a trattare specificamente l'analisi di composti correlati al fentanil e si concentra su test sui tessuti e sui fluidi biologici, per fornire supporto nelle indagini sulle intossicazioni e sui decessi correlati al fentanil.

Molte di queste riflessioni di natura analitica si applicano anche all'analisi delle sostanze stupefacenti sequestrate. La prima parte del manuale tratta la farmacologia e la tossicologia del fentanil e dei suoi analoghi, un aspetto particolarmente importante per questa classe di sostanze, la cui potenza può variare notevolmente. Segue una discussione sulle metodologie analitiche convalidate, utilizzando diverse tecniche analitiche e modalità operative strumentali.

In linea con l'obiettivo generale di questa serie di pubblicazioni dell'UNODC, questo manuale suggerisce approcci che possono aiutare gli esperti di analisi delle sostanze stupefacenti nella selezione di metodi appropriati al campione in esame e alla gamma di tecnologie e risorse disponibili nei loro laboratori.

Pertanto, i metodi qui descritti devono essere intesi come una guida pratica orientativa, vale a dire che piccole modifiche necessarie per adattarsi alle esigenze individuali non dovrebbero di norma cambiare la validità dei risultati. La scelta della metodologia e dell'approccio all'analisi, così come la decisione sulla necessità o meno di utilizzare metodi ulteriori, spetta all'esperto di analisi e può dipendere anche dalla disponibilità di strumentazione adeguata e dal livello di ammissibilità legale in funzione della giurisdizione in cui opera l'esperto analista.

Il lettore deve essere consapevole che esistono numerosi altri metodi, compresi quelli pubblicati nella letteratura scientifica, che possono produrre risultati accettabili. Tuttavia, ogni nuovo metodo che sarà utilizzato in un laboratorio deve essere convalidato e/o verificato prima dell'utilizzo routinario.

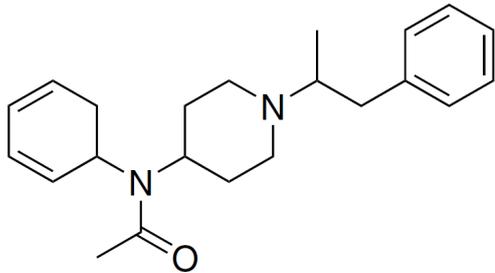
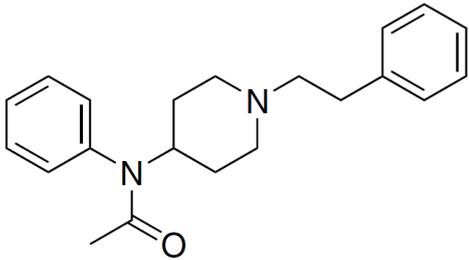
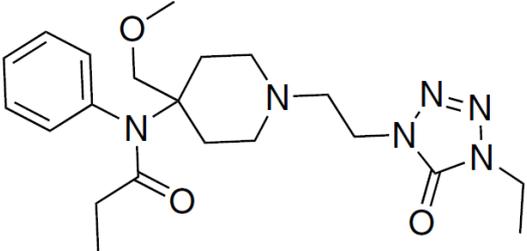
Si richiama inoltre l'attenzione sull'importanza della necessità di disporre di materiale e di letteratura di riferimento sulle droghe d'abuso e sulle tecniche analitiche. Inoltre, l'analista deve necessariamente tenersi aggiornato sulle tendenze più recenti riguardanti l'analisi delle sostanze stupefacenti, attenendosi costantemente alla letteratura analitica e forense più aggiornata.

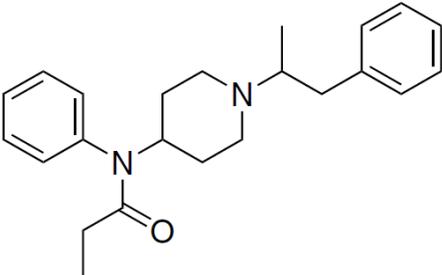
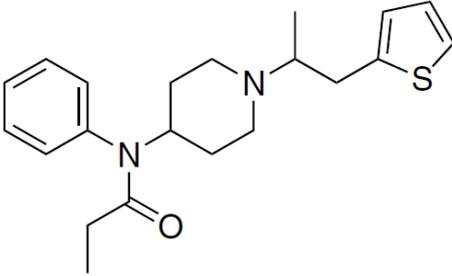
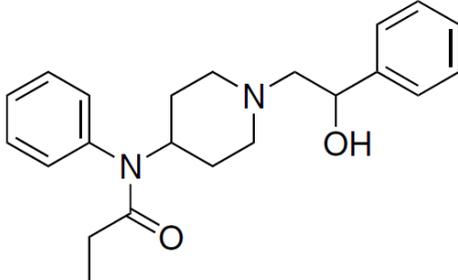
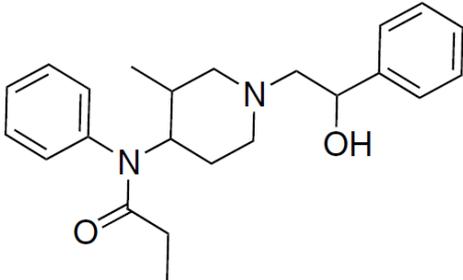
## **2. Aspetti generali**

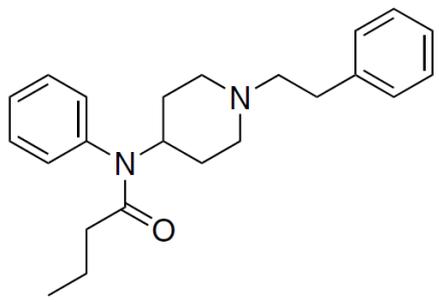
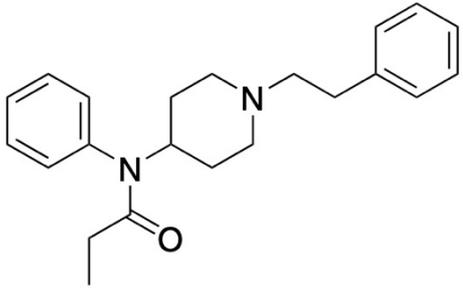
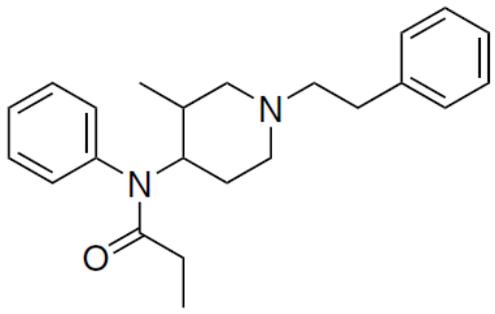
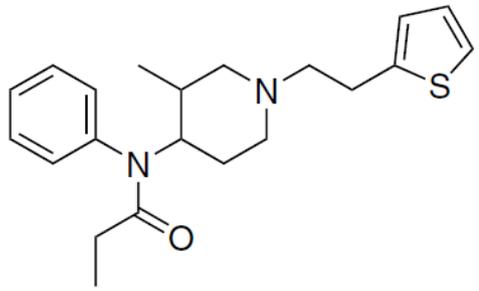
### **2.1 Definizione di fentanil e dei suoi analoghi**

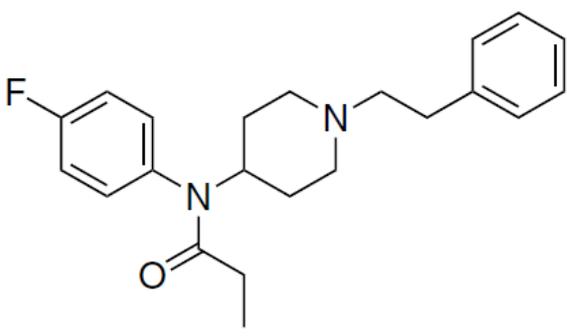
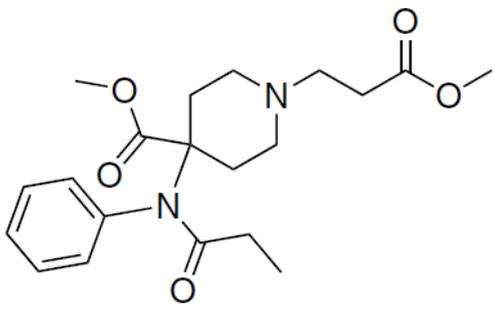
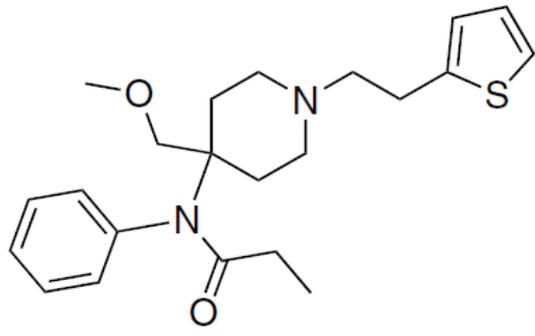
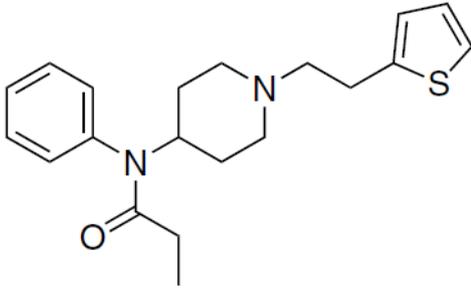
La Tabella 1 riporta un elenco di sostanze correlate al fentanil e ai relativi analoghi sottoposti a controllo internazionale e un elenco secondario di nuove sostanze psicoattive correlate ai fentanili e segnalate al Sistema di Allerta Precoce dell'UNODC, nonché di nuovi fentanili emergenti recentemente osservati nei casi forensi di diverse giurisdizioni.

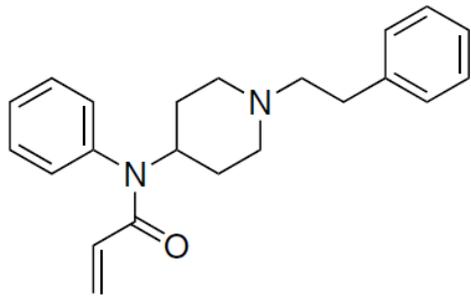
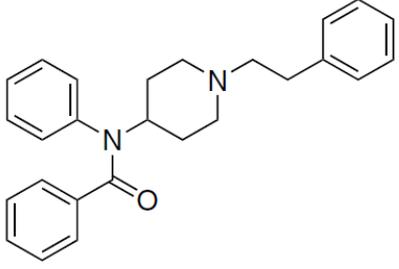
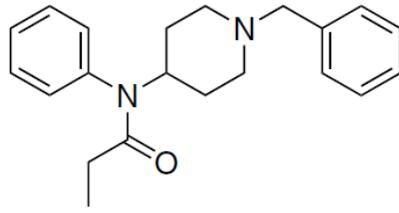
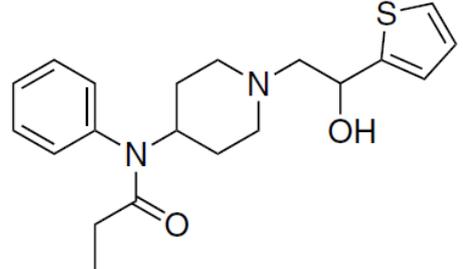
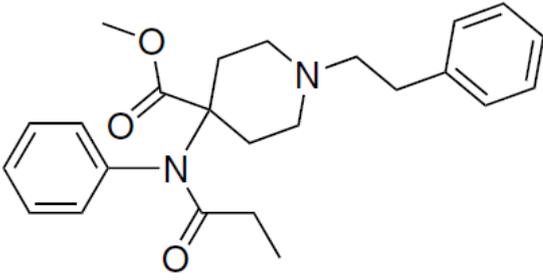
**Tabella 1. Elenco delle sostanze analoghe del fentanil sottoposte a controllo internazionale nonché degli analoghi controllati segnalati al Sistema di Allerta precoce dell'UNODC come Nuove Sostanze Psicoattive a partire dal settembre 2017.**

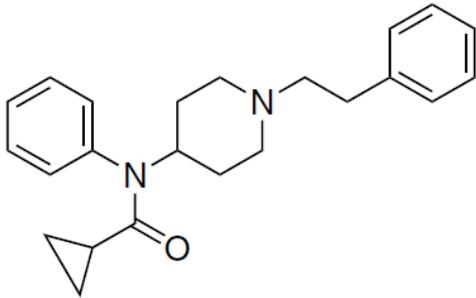
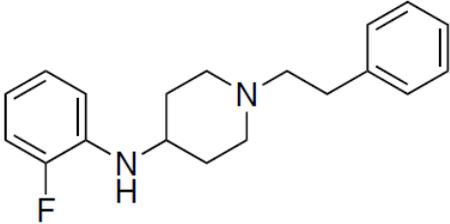
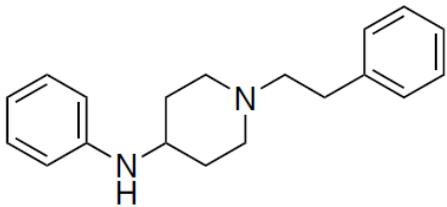
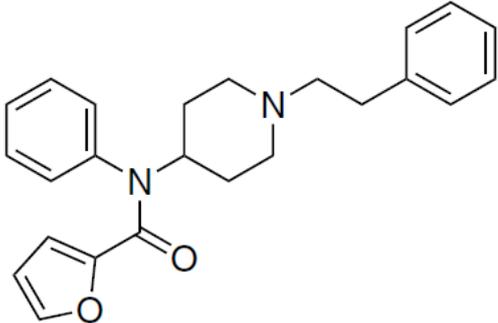
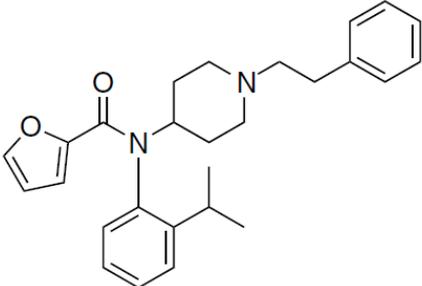
<p><b>Denominazione comune:</b> Acetil-alfa-metilfentanil</p> <p><b>Denominazione chimica:</b> N-fenil N-(1-(1-fenilpropan-2-il)piperidin-4-il)acetammide</p> <p><b>Numero CAS:</b> 101860-00-8</p> <p><b>Peso molecolare:</b> 336.48 g/mol</p> <p><b>Tipo di Controllo:</b> Convenzione Unica del 1961, Tabelle I/IV</p>	
<p><b>Denominazione comune:</b> Acetilfentanil</p> <p><b>Denominazione chimica:</b> N-[1-(2-feniletil)-4-piperidil]-N-fenilacetammide</p> <p><b>Numero CAS:</b> 3258-84-2</p> <p><b>Peso molecolare:</b> 322.45 g/mol</p> <p><b>Tipo di Controllo:</b> Convenzione Unica del 1961, Tabelle I/IV</p>	
<p><b>Denominazione comune:</b> Alfentanil</p> <p><b>Denominazione chimica:</b> N-(1-(2-(4-etil-5-osso-4,5-diidro-1H-tetrazol-1-il)etil)-4-(metossimetil)piperidin-4-il)-N-fenilpropionammide</p> <p><b>Numero CAS:</b> 71195-58-9</p> <p><b>Peso molecolare:</b> 416.53 g/mol</p> <p><b>Tipo di Controllo:</b> Convenzione Unica del 1961, Tabella I</p>	

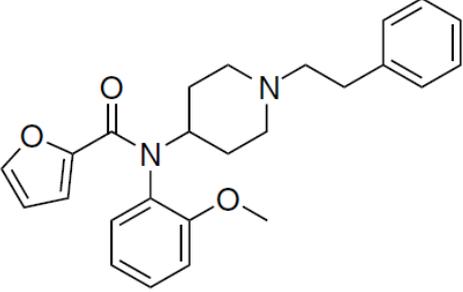
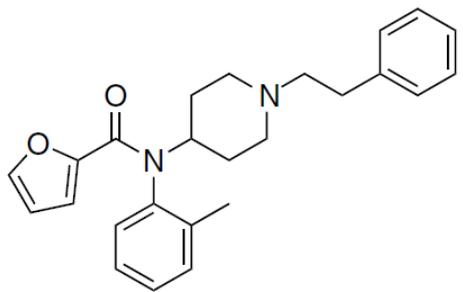
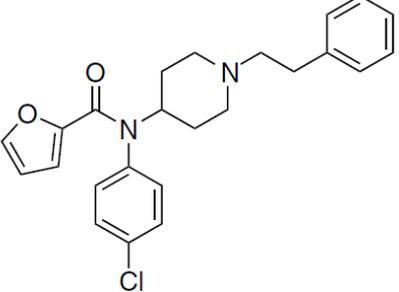
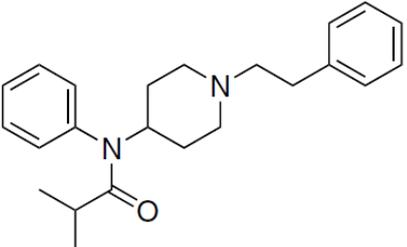
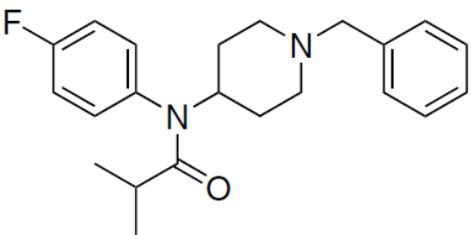
<p><b>Denominazione comune:</b> alfa-Metilfentanil</p> <p><b>Denominazione chimica:</b> N-fenil-N-(1-(1-fenilpropan-2-il)piperidin-4-il)propionamide</p> <p><b>Numero CAS:</b> 79704-88-4</p> <p><b>Peso molecolare:</b> 350.51 g/mol</p> <p><b>Tipo di Controllo:</b> Convenzione Unica del 1961, Tabelle I/IV</p>	
<p><b>Denominazione comune:</b> alfa-Metiltiofentanil</p> <p><b>Denominazione chimica:</b> N-fenil-N-(1-(1-(tiofen-2-il)propan-2-il)piperidin-4-il)propionamide</p> <p><b>Numero CAS:</b> 103963-66-2</p> <p><b>Peso molecolare:</b> 356.53 g/mol</p> <p><b>Tipo di Controllo:</b> Convenzione Unica del 1961, Tabelle I/IV</p>	
<p><b>Denominazione Comune:</b> beta-idrossifentanil</p> <p><b>Denominazione chimica:</b> N-(1-(2-idrossi-2-fenilettil)piperidin-4-il)-N-fenilpropionamide</p> <p><b>Numero CAS:</b> 78995-10-5</p> <p><b>Peso molecolare:</b> 352.48 g/mol</p> <p><b>Tipo di Controllo:</b> Convenzione Unica del 1961, Tabelle I/IV</p>	
<p><b>Denominazione Comune:</b> beta-idrossi-3-metilfentanil</p> <p><b>Denominazione chimica:</b> N-(1-(2-idrossi-2-fenilettil)-3-metilpiperidin-4-il)-N-fenilpropionamide</p> <p><b>Numero CAS:</b> 78995-14-9</p> <p><b>Peso molecolare:</b> 366.51 g/mol</p> <p><b>Tipo di Controllo:</b> Convenzione Unica del 1961, Tabelle I/IV</p>	

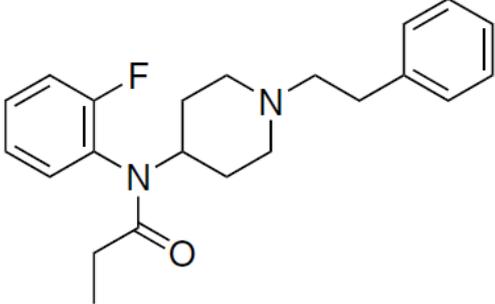
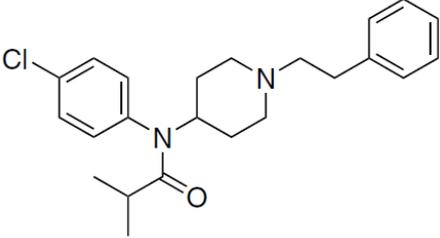
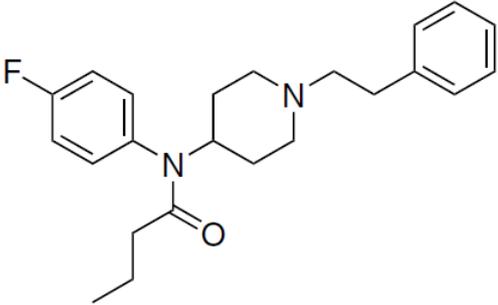
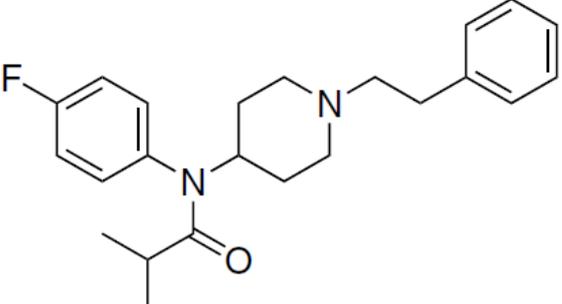
<p><b>Denominazione comune:</b> Butirrilfentanil</p> <p><b>Denominazione chimica:</b> N-(1-fenetilpiperidin-4-il)-N-fenilbutirrilammide</p> <p><b>Numero CAS:</b> 1169-70-6</p> <p><b>Peso molecolare:</b> 350.51 g/mol</p> <p><b>Tipo di Controllo:</b> Convenzione Unica del 1961, Tabella I</p>	
<p><b>Denominazione comune:</b> Fentanil</p> <p><b>Denominazione chimica:</b> N-(1-fenetilpiperidin-4-il)-N-fenilpropionammide</p> <p><b>Numero CAS:</b> 437-38-7</p> <p><b>Peso molecolare:</b> 336.48 g/mol</p> <p><b>Tipo di Controllo:</b> Convenzione Unica del 1961, Tabella I</p>	
<p><b>Denominazione comune:</b> 3-Metilfentanil</p> <p><b>Denominazione chimica:</b> N-(3-metil-1-fenetilpiperidin-4-il)-N-fenilpropionammide</p> <p><b>Numero CAS:</b> 42045-86-3</p> <p><b>Peso molecolare:</b> 350.51 g/mol</p> <p><b>Tipo di Controllo:</b> Convenzione Unica del 1961, Tabelle I/IV</p>	
<p><b>Denominazione comune:</b> 3-Metiltiofentanil</p> <p><b>Denominazione chimica:</b> N-(3-metil-1-(2-(tiofen-2-il)etil)piperidin-4-il)-N-fenilpropionammide</p> <p><b>Numero CAS:</b> 86052-04-2</p> <p><b>Peso Molecolare:</b> 356.53 g/mol</p> <p><b>Tipo di Controllo:</b> Convenzione Unica del 1961, Tabelle I/IV</p>	

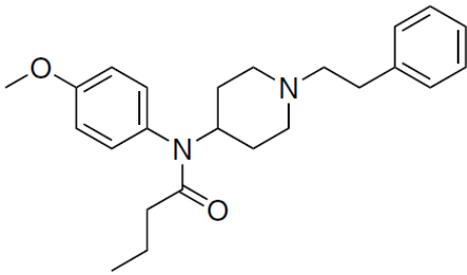
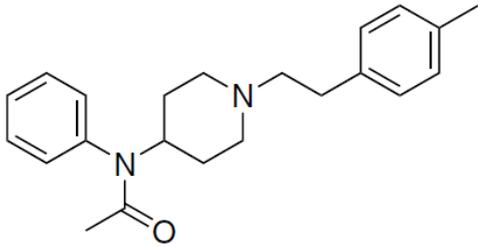
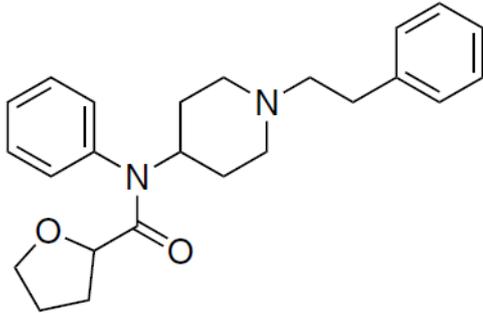
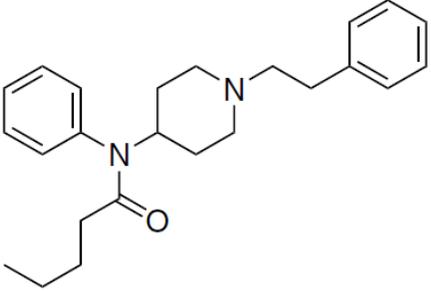
<p><b>Denominazione comune:</b> para-Fluorofentanil</p> <p><b>Denominazione chimica:</b> N-(4-fluorofenil)-N-(1-fenetilpiperidin-4-il)propionammide</p> <p><b>Numero CAS:</b> 1189887-65-7</p> <p><b>Peso molecolare:</b> 354.47 g/mol</p> <p><b>Tipo di Controllo:</b> Convenzione Unica del 1961, Tabelle I/IV</p>	
<p><b>Denominazione comune:</b> Remifentanil</p> <p><b>Denominazione chimica:</b> metil 1-(3-metossi-3-ossopropil)-4-(N-fenilpropionammide) piperidin-4-carbossilato</p> <p><b>Numero CAS:</b> 132875-61-7</p> <p><b>Peso molecolare:</b> 376.45 g/mol</p> <p><b>Tipo di Controllo:</b> Convenzione Unica del 1961, Tabella I</p>	
<p><b>Denominazione comune:</b> Sufentanil</p> <p><b>Denominazione chimica:</b> N-(4-(metossimetil)-1-(2-(tiofen-2-il)etil)piperidin-4-il)-N-fenilpropionammide</p> <p><b>Numero CAS:</b> 56030-54-7</p> <p><b>Peso molecolare:</b> 386.55 g/mol</p> <p><b>Tipo di Controllo:</b> Convenzione Unica del 1961, Tabella I</p>	
<p><b>Denominazione comune:</b> Tiofentanil</p> <p><b>Denominazione chimica:</b> N-fenil-N-(1-(2-(tiofen-2-il)etil)piperidin-4-il)propionammide</p> <p><b>Numero CAS:</b> 1165-22-6</p> <p><b>Peso molecolare:</b> 342.50 g/mol</p> <p><b>Tipo di Controllo:</b> Convenzione Unica del 1961, Tabelle I/IV</p>	

<p><b>Denominazione comune:</b> Acrilfentanil</p> <p><b>Denominazione chimica:</b> N-(1-fenetilpiperidin-4-il)-N-fenilacrilammide</p> <p><b>Numero CAS:</b> 82003-75-6</p> <p><b>Peso molecolare:</b> 334.46 g/mol</p> <p><b>Tipo di Controllo:</b> Convenzione Unica del 1961, Tabella I</p>	
<p><b>Denominazione comune:</b> Benzoilfentanil</p> <p><b>Denominazione chimica:</b> N-(1-fenetilpiperidin-4-il)-N-fenilbenzammide</p> <p><b>Numero CAS:</b> 2309383-15-9</p> <p><b>Peso molecolare:</b> 384.52 g/mol</p>	
<p><b>Denominazione comune:</b> Benzilfentanil</p> <p><b>Denominazione chimica:</b> N-(1-benzilpiperidin-4-il)-N-fenilpropionammide</p> <p><b>Numero CAS:</b> 1474-02-8</p> <p><b>Peso molecolare:</b> 322.45 g/mol</p>	
<p><b>Denominazione comune:</b> beta-idrossitiofentanil</p> <p><b>Denominazione chimica:</b> N-(1-(2-idrossi-2-(tiofen-2-il)etil)piperidin-4-il)-N-fenilpropionammide</p> <p><b>Numero CAS:</b> 1474-34-6</p> <p><b>Peso molecolare:</b> 358.50 g/mol</p>	
<p><b>Denominazione comune:</b> Carfentanil</p> <p><b>Denominazione chimica:</b> Metil 1-fenetil-4-(N-fenilpropionammide) piperidin-4-carbossilato</p> <p><b>Numero CAS:</b> 59708-52-0</p> <p><b>Peso molecolare:</b> 394.52 g/mol</p> <p><b>Tipo di Controllo:</b> Convenzione Unica del 1961, Tabelle I/IV</p>	

<p><b>Denominazione comune:</b> Ciclopropilfentanil</p> <p><b>Denominazione chimica:</b> N-(1-fenetilpiperidin-4-il)-N-fenilciclopropancarbossamide</p> <p><b>Numero CAS:</b> 1169-68-2</p> <p><b>Peso molecolare:</b> 348.49 g/mol</p> <p><b>Tipo di Controllo:</b> Convenzione Unica del 1961, Tabella I</p>	
<p><b>Denominazione comune:</b> Despropionil-2-fluorofentanil</p> <p><b>Denominazione chimica:</b> N-(2-fluorofenil)-1-fenetilpiperidin-4-ammina</p> <p><b>Numero CAS:</b> 864422-91-3</p> <p><b>Peso molecolare:</b> 298.41 g/mol</p>	
<p><b>Denominazione comune:</b> Despropionilfentanil (4-anilino-N-fenetilpiperidina)</p> <p><b>Denominazione chimica:</b> 1-fenetil-N-fenilpiperidin-4-ammina</p> <p><b>Numero CAS:</b> 21409-26-7</p> <p><b>Peso molecolare:</b> 280.42 g/mol</p>	
<p><b>Denominazione comune:</b> 2-Furanilfentanil</p> <p><b>Denominazione chimica:</b> N-(1-fenetilpiperidin-4-il)-N-fenilfuran-2-carbossamide</p> <p><b>Numero CAS:</b> 101345-66-8</p> <p><b>Peso molecolare:</b> 374.48 g/mol</p> <p><b>Tipo di Controllo:</b> Convenzione Unica del 1961, Tabella I</p>	
<p><b>Denominazione comune:</b> Analogo di 2-Furanilfentanil orto-2-isopropilfenile</p> <p><b>Denominazione chimica:</b> N-(2-isopropilfenil)-N-(1-fenetilpiperidin-4-il)furan-2-carbossamide</p> <p><b>Numero CAS:</b> Non applicabile</p> <p><b>Peso molecolare:</b> 416.57 g/mol</p>	

<p><b>Denominazione comune:</b> analogo di 2-Furanilfentanil orto-2-metossifenile</p> <p><b>Denominazione chimica:</b> N-(2-metossifenil)-N-(1-fenetilpiperidin-4-il)furan-2-carbossammide</p> <p><b>Numero CAS:</b> Non Applicabile</p> <p><b>Peso molecolare:</b> 404.51 g/mol</p>	
<p><b>Denominazione comune:</b> analogo di 2-Furanilfentanil orto-2-metilfenile</p> <p><b>Denominazione chimica:</b> N-(1-fenetilpiperidin-4-il)-N-(o-tolil)furan-2-carbossammide</p> <p><b>Numero CAS:</b> Non Applicabile</p> <p><b>Peso molecolare:</b> 388.51 g/mol</p>	
<p><b>Denominazione comune:</b> analogo di 2-Furanilfentanil para-clorofenile</p> <p><b>Denominazione chimica:</b> N-(4-clorofenil)-N-(1-fenetilpiperidin-4-il)furan-2-carbossammide</p> <p><b>Numero CAS:</b> Non Applicabile</p> <p><b>Peso molecolare:</b> 408.93 g/mol</p>	
<p><b>Denominazione comune:</b> Isobutirrilfentanil</p> <p><b>Denominazione chimica:</b> N-(1-fenetilpiperidin-4-il)-N-fenilisobutiramamide</p> <p><b>Numero CAS:</b> 117332-90-8 (HCl)</p> <p><b>Peso molecolare:</b> 350.51 g/mol</p>	
<p><b>Denominazione comune:</b> Analogo N-benzilico di Isobutirril-F-fentanil</p> <p><b>Denominazione chimica:</b> N-(1-benzilpiperidin-4-il)-N-(4-fluorofenil)isobutiramamide</p> <p><b>Numero CAS:</b> Non Applicabile</p> <p><b>Peso molecolare:</b> 354.47 g/mol</p>	

<p><b>Denominazione comune:</b> orto-Fluorofentanil</p> <p><b>Denominazione chimica:</b> N-(2-fluorofenil)-N-(1-fenetilpiperidin-4-il)propionammide</p> <p><b>Numero CAS:</b> 2306825-26-1</p> <p><b>Peso molecolare:</b> 354.47 g/mol</p> <p><b>Tipo di Controllo:</b> Convenzione Unica del 1961, Tabella I</p>	
<p><b>Denominazione comune:</b> para-cloroisobutirrilfentanil</p> <p><b>Denominazione chimica:</b> N-(4-clorofenil)-N-(1-fenetilpiperidin-4-il)isobutiramamide</p> <p><b>Numero CAS:</b> Non Applicabile</p> <p><b>Peso molecolare:</b> 384.95 g/mol</p>	
<p><b>Denominazione comune:</b> para-Fluorobutirrilfentanil</p> <p><b>Denominazione chimica:</b> N-(4-fluorofenil)-N-(1-fenetilpiperidin-4-il)butiramamide</p> <p><b>Numero CAS:</b> 244195-31-1</p> <p><b>Peso molecolare:</b> 368.50 g/mol</p> <p><b>Tipo di Controllo:</b> Convenzione Unica del 1961, Tabella I</p>	
<p><b>Denominazione comune:</b> para-Fluoroisobutirrilfentanil</p> <p><b>Denominazione chimica:</b> N-(4-fluorofenil)-N-(1-fenetilpiperidin-4-il)isobutiramamide</p> <p><b>Numero CAS:</b> 244195-32-2</p> <p><b>Peso molecolare:</b> 368.50 g/mol</p> <p><b>Tipo di Controllo:</b> Convenzione Unica del 1961, Tabella I</p>	

<p><b>Denominazione comune:</b> para-Metossibutirrilfentanil</p> <p><b>Denominazione chimica:</b> N-(4-metossifenil)-N-(1-fenetilpiperidin-4-il)butirrammide</p> <p><b>Numero CAS:</b> Non Applicabile</p> <p><b>Peso molecolare:</b> 380.53 g/mol</p>	
<p><b>Denominazione comune:</b> para-Metilfenetilacetilfentanil</p> <p><b>Denominazione chimica:</b> N-(1-(4-metilfenil)piperidin-4-il)-N-fenilacetammide</p> <p><b>Numero CAS:</b> 1071703-95-1 (HCl)</p> <p><b>Peso molecolare:</b> 336.48 g/mol</p>	
<p><b>Denominazione comune:</b> Tetraidrofuranilfentanil</p> <p><b>Denominazione Chimica:</b> N-(1-fenetilpiperidin-4-il)-N-feniltetraidrofuran-2-carbossammide</p> <p><b>Numero CAS:</b> Non Applicabile</p> <p><b>Peso Molecolare:</b> 378.52 g/mol</p> <p><b>Tipo di Controllo:</b> Convenzione Unica del 1961, Tabella I</p>	
<p><b>Denominazione comune:</b> Valerilfentanil</p> <p><b>Denominazione chimica:</b> N-(1-fenetilpiperidin-4-il)-N-fenilpentan-ammide</p> <p><b>Numero CAS:</b> 122882-90-0</p> <p><b>Peso molecolare:</b> 364.53 g/mol</p> <p><b>Tipo di Controllo:</b> Convenzione Unica del 1961, Tabella I</p>	

## 2.2 Nomenclatura

Il sistema ufficiale per la denominazione dei composti chimici segue le regole di nomenclatura stabilite dall'Unione Internazionale di Chimica Pura e Applicata (IUPAC). Tuttavia, la denominazione e il posizionamento dei sostituenti possono variare a seconda delle convenzioni accettate, che possono variare da Paese a Paese, generando confusione sull'identità dell'analita. Gli analoghi del fentanil hanno le terminazioni generiche di "ir-", "irl-" e "oil-", che vengono utilizzate in modo intercambiabile.

Occasionalmente, nomi comuni derivano da convenzioni multiple di numerazione, come ad esempio valerilfentanil, noto, anche, come pentanoil o pentanilfentanil. La presenza del termine "arene" indica la posizione di sostituenti diversi dall'idrogeno su un idrocarburo aromatico; orto-, meta- e para- e 2-, 3- e 4- si riferiscono, rispettivamente, alla stessa posizione (ad esempio, 2-fluorofentanile è uguale a orto-fluorofentanile).

Per coerenza, questo manuale utilizza le denominazioni orto-, meta- e para-. Le notazioni che includono simboli greci possono essere rappresentate sia come simbolo che come nome (ad esempio, alfa-metilfentanil =  $\alpha$ -metilfentanil). Per coerenza, questo manuale riporta le notazioni "alfa" e "beta".

### **2.3 Prodotti a base di fentanil in versione farmaceutica e in combinazione con altre sostanze**

Le preparazioni farmaceutiche di fentanil sono attualmente disponibili come pastiglie orali transmucosali, compresse effervescenti per uso orale, compresse e spray sublinguali, spray nasali, cerotti transdermici e formulazioni iniettabili [9]. I nomi commerciali utilizzati per questa sostanza includono: Actiq® (pastiglia), Duragesic® (cerotto transdermico), Fentora™ (compressa orale), Abstral® (compressa sublinguale), Subsys™ (spray sublinguale), Sublimaze® (soluzione iniettabile), Lazanda® (spray nasale) e Lonsys™ (dispositivo transdermico).

I nomi commerciali delle sostanze sufentanil e carfentanil sono rispettivamente Sufenta® e Wildnil™, mentre i nomi della sostanza alfentanil sono Alfenta® e Rapifen®.

La popolarità del fentanil è andata oltre l'uso/abuso di preparazioni farmaceutiche, fino all'abuso di fentanil di produzione illecita, che ha portato alla proliferazione dei suoi analoghi. Il fentanil e i suoi analoghi si presentano in genere sotto forma di polvere, che può essere utilizzata tal quale o mescolata con altre sostanze per essere poi fumata o assunta per via intranasale o endovenosa. Le polveri possono, anche, essere pressate in compresse, spesso come forme contraffatte di altri farmaci oppioidi (ad esempio, pillole di idrocodone o di morfina), o di altre classi di farmaci (compresse di alprazolam), o mescolate per ottenere spray intranasale [9-12].

L'abuso di fentanil e dei suoi analoghi è popolare a causa dei suoi potenti effetti analgesici narcotici. Queste sostanze possono sostituire o addirittura potenziare l'effetto dell'eroina e di altri oppioidi naturali e/o semisintetici. È stato stimato che il 41% dei circa 7.100 decessi legati all'eroina negli Stati Uniti tra il 2012 e il 2014 ha coinvolto il fentanil [13].

Diversi Paesi, tra cui Canada, Svezia, Estonia, Germania, Regno Unito, Finlandia e Grecia, hanno riportato quasi 1.500 decessi collegati al fentanil tra il 2005 e il 2014 [6,14,15]. Nel marzo 2015, la Drug Enforcement Administration (DEA) degli Stati Uniti ha lanciato un'allerta per l'eroina contenente fentanil [16] e diverse altre regioni degli Stati Uniti hanno riportato un aumento dei decessi correlati al fentanil [17-22].

Una delle sfide dello sviluppo di metodi validati per l'analisi e l'identificazione del fentanil e dei suoi analoghi in un mercato così dinamico e in rapida evoluzione è che spesso i materiali analitici di riferimento non sono disponibili in commercio. Per aiutare il lavoro degli analisti, esistono numerose risorse e database online (si veda la tabella 2), che possono contenere spettri di massa di riferimento e altri dati analitici a supporto dell'identificazione di analoghi del fentanil nuovi ed emergenti.

**Tabella 2. Risorse online per spettri di massa e per sostanze psicoattive**

UNODC	<a href="https://www.unodc.org/LSS/Home/NPS">https://www.unodc.org/LSS/Home/NPS</a>
SWGDRUG	<a href="http://swgdrug.org/">http://swgdrug.org/</a>
Cayman Chemicals	<a href="https://www.caymanchem.com/Home">https://www.caymanchem.com/Home</a>
Spectral Database for Organic Compounds SDBS	<a href="http://sdb.sdb.aist.go.jp/sdbs/cgi-bin/direct_frame_top.cgi">http://sdb.sdb.aist.go.jp/sdbs/cgi-bin/direct_frame_top.cgi</a>
NPS Data Hub	<a href="https://www.nps-datahub.com/">https://www.nps-datahub.com/</a>
Designer Drugs Online MS Database	<a href="https://db12.designer-drugs.de/login.pl">https://db12.designer-drugs.de/login.pl</a>
New Synthetic Drug Database	<a href="http://nsddb.eu/">http://nsddb.eu/</a>
Data Search System for New Psychoactive Substances	<a href="http://npsdb.nih.gov/Search/Default_e.aspx">http://npsdb.nih.gov/Search/Default_e.aspx</a>
Mass Bank	<a href="http://www.massbank.jp/?lang=en">http://www.massbank.jp/?lang=en</a>
Pubchem	<a href="https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/">https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/</a>

### 3. Aspetti di sicurezza nella manipolazione di reperti di fentanil

#### 3.1 Buone pratiche di laboratorio

È necessario mettere in atto pratiche di laboratorio per garantire ambienti di lavoro sicuri. Inoltre, i laboratori devono disporre di strutture e protocolli necessari per eseguire le analisi disponibili. La manipolazione di materiali biologici espone il personale di laboratorio a rischi di infezione da, tra gli altri, epatite e HIV. Tutto il personale deve quindi prendere le precauzioni necessarie e attenersi alle procedure di sicurezza, come indossare guanti e altri indumenti protettivi. (Si veda la Sezione VI.: Collocazione, ambiente e sicurezza del laboratorio nelle Linee guida consigliate per l'assicurazione della qualità e le buone pratiche di laboratorio, per ulteriori raccomandazioni [23].

Il rischio di esposizione clinicamente significativa al fentanil e ai suoi analoghi per i soccorritori di pronto intervento è estremamente basso, poiché è improbabile un assorbimento cutaneo accidentale con conseguente tossicità da oppioidi. L'American College of Medical Toxicology (ACMT) e l'American Academy of Clinical Toxicology (AACT) consigliano l'uso di dispositivi di protezione individuale (DPI) di base, come guanti in nitrile e un respiratore N95, come protezione sufficiente per evitare l'esposizione al fentanil per via cutanea o per inalazione [24].

#### ***Disponibilità e uso del naloxone nei laboratori di analisi***

Il personale di emergenza e gli altri professionisti che possono incontrare il fentanil o gli analoghi del fentanil devono essere addestrati a riconoscere i sintomi dell'intossicazione da oppioidi, come la depressione della funzione respiratoria, la confusione e la perdita di vigilanza [24].

Inoltre, questi professionisti dovrebbero avere un accesso immediato al naloxone (ad esempio, Narcan®), un farmaco utilizzato per bloccare gli effetti degli oppioidi, nonché una formazione per la sua somministrazione.

### 4. Farmacologia e tossicologia del fentanil e dei suoi analoghi

#### 4.1 Panoramica

Il fentanil, un potente analgesico narcotico, è stato sintetizzato nel 1960. Viene utilizzato nel trattamento del dolore episodico cronico oncologico e in altri tipi di dolori cronici e nell'anestesia chirurgica.

Il fentanil attiva gli stessi recettori della morfina ed è quindi classificato come oppioide. Il fentanil appartiene a una famiglia di farmaci con struttura chimica feniletilpiperidinica e possiede molteplici posizioni per

l'aggiunta o la sostituzione di differenti gruppi funzionali chimici per produrre sottofamiglie di composti con effetto analgesico o tossico simile o addirittura superiore.

Il fentanil e i suoi analoghi sono caratterizzati da una potenza tipicamente superiore a quella della morfina, fino a diverse migliaia di volte nel caso del carfentanil o del remifentanil, ma normalmente nell'ordine da dieci a cinquecento volte la potenza della morfina.

Questi oppioidi sintetici In genere hanno una breve durata d'azione, una rapida insorgenza dell'effetto, un'elevata solubilità lipidica, pochi rischi cardiovascolari e, a differenza della morfina, un limitato rilascio di istamina [25].

I fentanili di produzione farmaceutica hanno un significativo effetto di primo passaggio, essendo rapidamente metabolizzati nel fegato.

Pertanto, tali principi attivi non vengono somministrati terapeuticamente per via enterica, bensì attraverso formulazioni transmucosali, attraverso le vie sublinguali o buccali (pastiglie, "lecca-lecca" o spray), per la gestione del dolore intenso.

Per il trattamento del dolore cronico, il fentanil viene somministrato tramite cerotto transdermico. Per l'uso chirurgico e l'anestesia, il fentanil viene somministrato per via intramuscolare o intratecale con blocco nervoso, o per via endovenosa [26].

I preparati farmaceutici di fentanil sono stati utilizzati illegalmente come sostanze d' abuso mediante l'applicazione di più cerotti oppure masticando o fumando il gel presente nei cerotti di fentanil [27-31].

Altri fentanili farmaceutici (alfentanil, remifentanil, sufentanil e carfentanil, quest'ultimo approvato solo per uso veterinario) trovano applicazione solo nell'anestesia chirurgica a causa della loro potenza e sono stati storicamente meno soggetti a diversione e abuso [32].

A partire dagli anni '80 si sono verificati episodi di sintesi clandestina e illecita di analoghi del fentanil. Alcuni di questi sono tratti direttamente dai brevetti Janssen degli anni '60 e successivi, ma altri sono completamente nuovi e non sono stati descritti in precedenza.

Di queste nuove droghe si sa poco in termini di forza di legame con i recettori o di risposta analgesica negli animali o nell'uomo, e rappresentano una minaccia significativa per la salute e la sicurezza pubblica.

## **4.2 Meccanismo d'azione e tossicità**

L'attività farmacologica del fentanil e dei suoi analoghi è dovuta alla loro attivazione dei recettori oppioidi, con un'attività primaria derivante dall'attivazione del recettore mu, che è il principale sottotipo di recettore coinvolto nella segnalazione del dolore [33].

Oltre alle proprietà analgesiche, gli agonisti dei recettori mu-oppioidi causano costrizione pupillare, costipazione, diminuzione dello stato di coscienza, euforia e depressione respiratoria dose-dipendente, che può portare alla morte.

Gli effetti euforici degli agonisti oppioidi possono portare all'assuefazione e alla dipendenza.

Anche i recettori delta-oppioidi contribuiscono all'analgesia, oltre che alla sedazione, alla compromissione della cognizione, all'umore depresso, all'incoordinazione e alla compromissione motoria, mentre i recettori kappa-oppioidi mediano la sensazione di dolore, la sedazione, la compromissione cognitiva, gli effetti sull'umore, la diuresi e la termoregolazione. Gli oppioidi con un legame significativo con il recettore kappa provocano anche effetti allucinatori o dissociativi.

Nel complesso, il profilo degli effetti collaterali tipico dell'uso degli agonisti oppioidi comprende depressione respiratoria, sedazione, sonnolenza, vertigini, nausea, vomito, affaticamento, cefalea e costipazione. La tolleranza agli effetti analgesici ed euforizzanti degli oppioidi si sviluppa rapidamente, e le dosi richiedono spesso un aggiustamento per una gestione efficace del dolore.

La cessazione dell'uso di agonisti oppioidi porta a una sindrome da astinenza, caratterizzata da desiderio di assumere la sostanza, disforia, ansia, insonnia, frequenza cardiaca irregolare, perdita di appetito, diarrea, sudorazione, nausea e vomito [34].

Il meccanismo principale responsabile dell'overdose fatale da oppioidi è la depressione respiratoria, che porta a indicatori patologici come la schiuma nelle vie aeree e l'edema cerebrale e polmonare. All'autopsia si osserva spesso una vescica urinaria distesa.

Il fentanil e i suoi analoghi hanno una potenza elevata rispetto alla morfina, che molto probabilmente in combinazione con l'incertezza della dose effettivamente assunta, l'uso ripetuto, anche in associazione con più sostanze contribuisce agli alti tassi di overdose, depressione respiratoria e morte associati a questi composti [35].

#### **4.3 Potenza relativa del fentanil e dei suoi analoghi**

Il fentanil e i suoi analoghi sono stati originariamente sviluppati come alternative più sicure alla morfina, con minori effetti collaterali. È stato dimostrato che il fentanil stesso ha una potenza analgesica pari a 50-100 volte quella della morfina, ma con un indice terapeutico circa cinque volte superiore.

Oltre agli analoghi del fentanil approvati per l'uso umano, come il fentanil, il remifentanil, l'alfentanil e il sufentanil, pochi altri analoghi del fentanil sono stati valutati per i parametri farmacocinetici nell'uomo, tra cui la potenza, l'affinità di legame con i recettori  $\mu$ -,  $\delta$ - e  $\kappa$ -oppioidi o l'efficacia recettoriale.

A causa delle molteplici posizioni in cui è possibile effettuare sostituzioni nella struttura centrale del fentanil, come la sostituzione degli anelli fenilici o piperidinici, l'alterazione della lunghezza della catena o la sostituzione sulla catena alchilica e l'alogenazione su più siti, è possibile un'ampia gamma di sostituzioni chimiche e conseguentemente generare numerosi analoghi del fentanil.

Questi cambiamenti strutturali possono influenzare drasticamente l'attività analgesica e la potenza di tali composti, oltre ad alterarne lo status legale.

La Tabella 3 riassume l'attività analgesica e la potenza relativa alla morfina per il fentanil e analoghi selezionati. La dose efficace mediana (ED50) è la quantità di farmaco che produce una risposta terapeutica o l'effetto desiderato nella metà dei soggetti del test.

**Tabella 3. Attività analgesica (ED<sub>50</sub>) e potenza analgesica rispetto alla morfina per gli analoghi del fentanil indicati**

Composto	Attività analgesica ED <sub>50</sub> (mg/kg)	Potenza analgesica relativa alla morfina	Riferimento
Morfina	13.9	1	[36]
Butirrilfentanil	0.047-0.220	7	[37]
Furanilfentanil	0.02	7	[36]
Acetilfentanil	0.021	16	[37]
para-Fluorofentanil	0.021	16	[37]
alfa-Metilfentanil	0.0058	56.9	[37]
Alfentanil	0.044	75	[32]
Acrilfentanil	0.082	170	[36]
Remifentanil	0.73	220	[39]
<b>Fentanil</b>	<b>0.062</b>	<b>224</b>	[36]
Sufentanil	0.00071	4520	[40]
(+) cis-3-Metilfentanil	0.00058	5530	[40]
Carfentanil	0.00032	10030	[40]
Isobutirrilfentanil	0.048-0.261	1.3-6.9	[37]

Tutti gli analoghi del fentanil per i quali sono disponibili informazioni hanno un'attività analgesica più forte rispetto alla morfina [41]. Sebbene molti di questi dati derivino da studi sui modelli animali con diversi endpoint per l'analgesia, complessivamente danno un'idea della potenza relativa per queste molecole; tuttavia questi studi preclinici non forniscono indicazioni sulla loro tossicità, come il grado di depressione respiratoria o di incoscienza e dovrebbero essere utilizzati solo per comprenderne la potenza relativa rispetto alla morfina.

Come dimostrato nella Tabella 3, alcuni analoghi del fentanil possono essere più potenti del fentanil stesso.

Ad esempio, (+) cis e trans-3-metilfentanil sono rispettivamente circa 7.000 e 1.000 volte più potenti della morfina [42], e il carfentanil ha una potenza analgesica di oltre 10.000 volte superiore a quella della morfina in un modello murino [37].

Queste differenze hanno implicazioni sulla rilevabilità di queste sostanze nei campioni tossicologici, che può richiedere una maggiore sensibilità analitica; ad esempio alcune tecniche analitiche tradizionali, come la cromatografia liquida con rilevamento UV visibile (LC/UV) e la gascromatografia con rilevamento a ionizzazione di fiamma (GC/FID), non sono adatte all'analisi del fentanil e/o dei suoi analoghi.

Le differenze nella potenza, ma anche nell'emivita di queste sostanze, hanno implicazioni anche a livello di intervento medico. Ad esempio, l'acrilfentanil è più potente del fentanil e con una durata d'azione maggiore [43]; di conseguenza, l'acrifentanil può richiedere un periodo più lungo di supporto sintomatico al pronto soccorso e/o la somministrazione di dosi ripetute di naloxone.

## 4.4 Metabolismo

L'identificazione dei metaboliti delle sostanze d'abuso può contribuire a prolungarne la finestra di rilevamento nei campioni biologici. Tuttavia, per molti analoghi del fentanil non sussistono studi di farmacocinetica e i loro metaboliti possono essere solo previsti tenendo conto di vie metaboliche note e quindi aggiunti ai test tossicologici, se il materiale di riferimento lo consente.

Come precedentemente detto, il fentanil ha un nucleo di feniletilpiperidina nella sua struttura e, poiché molti dei suoi analoghi incorporano variazioni su questo nucleo, seguono le vie metaboliche consolidate del fentanil.

La principale via metabolica del fentanil è la N-dealchilazione sull'azoto piperidinico a norfentanil, il suo principale metabolita inattivo, con vie minori che coinvolgono l'idrolisi ammidica a despropionilfentanil e l'idrossilazione alchilica a idrossifentanil [44].

Altri analoghi del fentanil condividono queste vie generali. Il metabolismo del 3-metilfentanil, studiato nei ratti e con isoenzimi umani ricombinanti, ha identificato la N-dealchilazione a 3-metilnorfentanil seguita dall'idrossilazione della parte alchilica e arilica e dall'idrossilazione della catena laterale propanamidica come vie predominanti [45].

L'acetilfentanil viene metabolizzato nell'uomo prevalentemente per idrossilazione della parte fenilica a idrossiacetilfentanil, mentre la formazione di noracetilfentanil è una via minore [46].

L'acrilfentanil e il para-fluoro-isobutirrilfentanil sono metabolizzati prevalentemente per N-dealchilazione, scissione della frazione fenilica, mono-idrossilazione del legame etilico e dell'anello piperidinico, nonché idrossilazione/metossilazione dell'anello fenilico [47].

I principali metaboliti del furanilfentanil sono stati generati dall'idrolisi ammidica e dalla formazione di diidrodioli [48].

Per il butirrilfentanil, predominano l'idrossilazione e la carbossilazione, mentre il nor-metabolita e il desbutirril metabolita sono minori [49,50]. Per il carfentanil, la N-dealchilazione e la monoidrossilazione dell'anello piperidinico sono le vie di metabolismo predominanti [51].

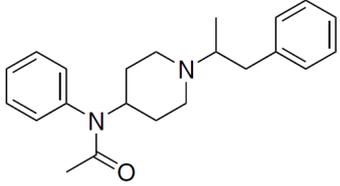
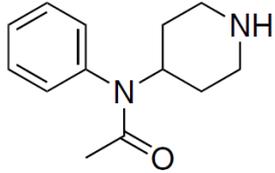
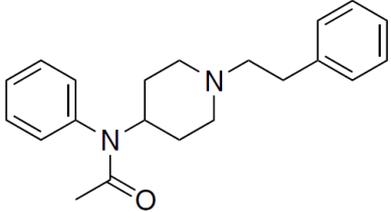
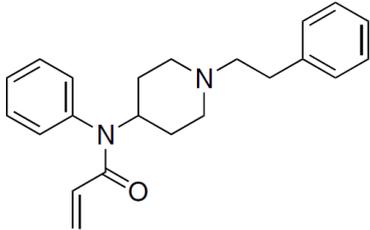
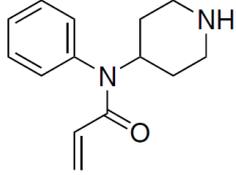
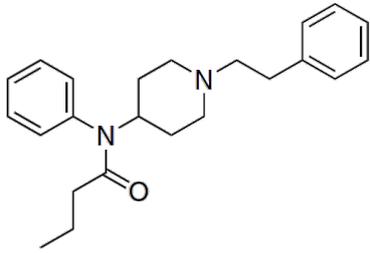
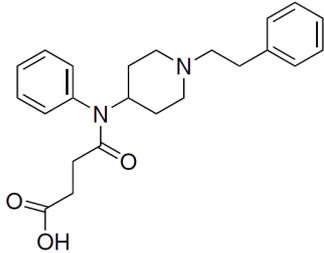
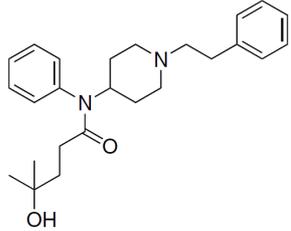
La Tabella 4 mostra i metaboliti noti dei principali fentanili ed evidenzia quelli comuni a più di un farmaco.

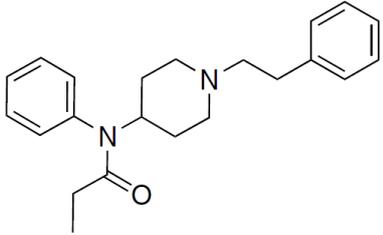
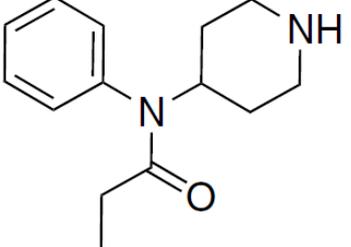
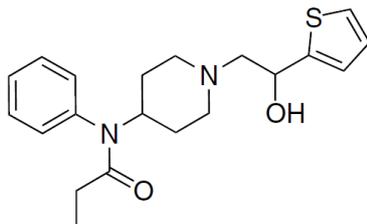
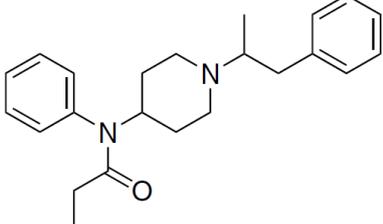
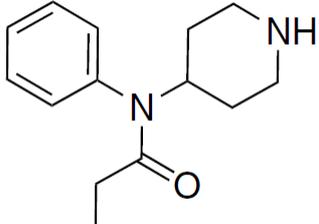
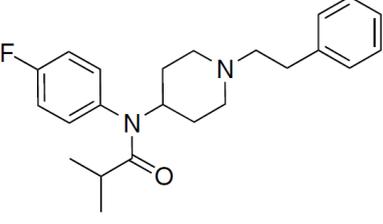
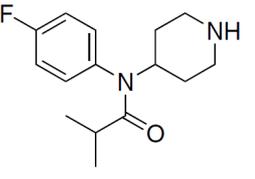
Sulla base di queste considerazioni, è probabile che altri analoghi del fentanil, il cui metabolismo non è stato studiato, siano metabolizzati in modo simile attraverso le stesse reazioni di fase I ai rispettivi nor-metaboliti tramite N-dealchilazione sull'anello piperidinico e attraverso altre vie metaboliche comuni, tra cui l'idrossilazione, la diidrossilazione e la carbossilazione, spesso in combinazione con la N-dealchilazione. I metaboliti idrossilati sono spesso coniugati attraverso reazioni di fase II, rendendo consigliabile l'idrolisi dei campioni di urina prima dell'analisi [47].

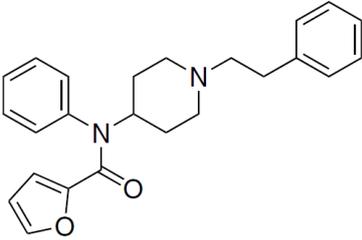
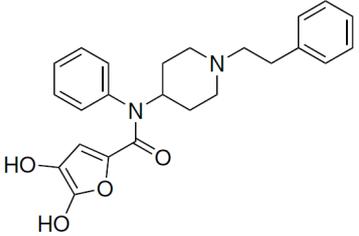
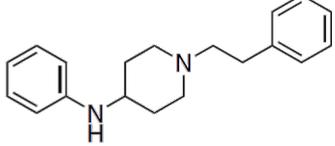
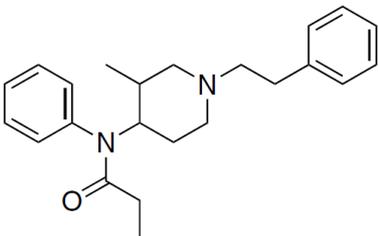
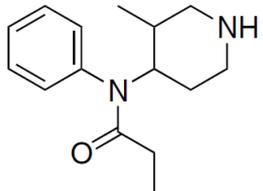
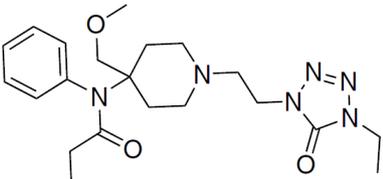
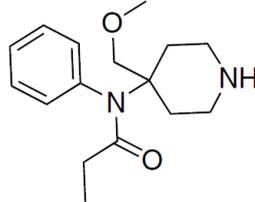
A causa della somiglianza strutturale e delle vie metaboliche condivise, il metabolismo di molti analoghi del fentanil può dare origine a metaboliti condivisi, che possono complicare l'interpretazione dei dati tossicologici. Ad esempio, il norfentanil viene rilevato come prodotto metabolico di fentanil, alfa-metilfentanil e beta-idrossitiofentanil [52,53].

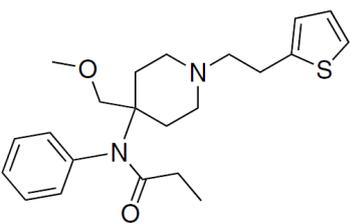
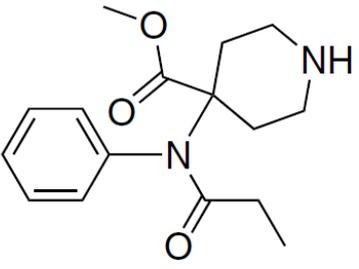
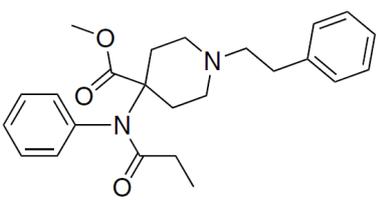
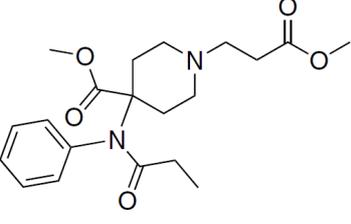
Il metabolismo dell'alfentanil e del sufentanil ha in comune il metabolita N-desalchilico. Il 4-ANPP (4-anilino-N-fenilpiperidina; despropionilfentanil) è frequentemente rilevato nei casi fentanil correlati ed è sia un precursore per la produzione di fentanil illecito e dei suoi analoghi [44], sia un metabolita condiviso da altri; pertanto, offre una specificità limitata in termini di identificazione della sostanza ingerita.

**Tabella 4. Analoghi chiave del fentanil e loro metaboliti noti e comuni**

Nome comune	Struttura	Metabolita
Acetil-alfa-metilfentanil		
Acetilfentanil		Acetilnorfentanil [47]
Acrilfentanil		 Acrilnorfentanil [47]
Butirrilfentanil		 Carbossibutirrilfentanil
		 Idrossibutirrilfentanil [50]

<p>Fentanil</p>		 <p>Norfentanil [52, 54]</p>
<p>beta-idrossiofentanil</p>		<p>Norfentanil [52, 54]</p>
<p>alfa-Metilfentanil</p>		 <p>Norfentanil [52, 54]</p>
<p>para-Fluoroisobutirrilfentanil</p>		 <p>Para-Fluoroisobutirrilnorfentanil</p>

<p>2-Furanilfentanil</p>		 <p>Furanilfentanildiidrodiolo [47]</p>  <p>Idrolisi ammidica di furanilfentanil [47]</p>
<p>3-Metilfentanil</p>		 <p>3-metilnorfentanil [45]</p>
<p>Alfentanil</p>		 <p>Noralfentanil [55]</p>

Sufentanil		 Norcarfentanil [51]
Carfentanil		
Remifentanil		

## 5. Analisi del fentanil e dei suoi analoghi e dei loro metaboliti in campioni biologici

### 5.1 Analiti prioritari legati al fentanil nella casistica analitica

Il presente manuale si concentra sia sugli analoghi del fentanil attualmente disponibili e approvati per uso umano o veterinario (fentanil, sufentanil, alfentanil, remifentanil e carfentanil), sia sugli analoghi del fentanil sintetizzati clandestinamente in modo illecito. A settembre 2017, l'elenco comprende gli analoghi del fentanil che sono sotto controllo internazionale e altri analoghi del fentanil che sono stati segnalati all'Early Warning Advisory on New Psychoactive Substances dell'UNODC, nonché i fentanil emergenti recentemente osservati nella casistica forense (vedi tabella 1).

### 5.2 Considerazioni strutturali generali per la selezione dei metodi analitici

La molecola del fentanil è composta da tre parti principali: una parte fenilalchilica, un anello piperidinico e una parte propilalchilamidica. Numerosi analoghi del fentanil sono prodotti da modifiche apportate alla parte propilalchilamidica del fentanil, alterando la lunghezza della catena del gruppo arilalchilpiperidinico o sostituendo il sostituente aromatico sulla parte fenilalchilica.

Il fentanil è un farmaco basico con un pKa di 8,4. Altri analoghi del fentanil hanno riportato le seguenti pKa: alfentanil (6,5), remifentanil (7,1) e sufentanil (8,0).

L'efficienza di estrazione è massima quando il pH della soluzione si trova a circa  $\pm 2$  unità del pKa, a quel punto la molecola sarà completamente ionizzata o non ionizzata. Nei protocolli di estrazione liquido-liquido, la forma non ionizzata del farmaco sarà prontamente estratta in un solvente organico e, nel caso del fentanil, tutta la sostanza dovrebbe essere nella forma non ionizzata a due unità di pH sopra il pKa (pH  $\sim 10,4$ ).

Nei metodi di estrazione in fase solida che utilizzano lo scambio cationico, l'intervallo di pH ottimale sarebbe di due unità al di sotto del pKa (pH  $\sim 6,4$ ), in modo da ionizzare la sostanza e consentirgli di legarsi al sorbente e di essere trattenuta.

La modifica e la sostituzione della struttura centrale del fentanil per ottenere altri fentanili ha dato origine a più isomeri con la stessa formula molecolare e la stessa massa esatta, ma che differiscono nella disposizione degli atomi all'interno delle molecole.

La presenza di questi isomeri fa in modo che l'identificazione non sia sempre possibile solo sulla base dello spettro di massa, soprattutto quando non sono disponibili standard di riferimento certificati. Gli isomeri producono lo stesso ione molecolare e spesso producono lo stesso picco di base e schemi di frammentazione simili. Per distinguere gli isomeri che non presentano una frammentazione univoca, è necessario risolverli cromatograficamente o differenziarli utilizzando transizioni univoche, ove esistenti.

### **5.3 Accertamenti analitici: Campionamento e tipologia di campioni**

#### **Campioni prelevati da individui vivi/deceduti**

##### *Sangue/siero/plasma*

Nei soggetti viventi, il sangue intero viene generalmente raccolto dalla vena antecubitale mentre il plasma rappresenta la frazione liquida del sangue priva degli elementi corpuscolati (globuli rossi, globuli bianchi e piastrine) ed il siero la frazione liquida del sangue priva del fibrinogeno e delle altre sostanze che intervengono nel processo di coagulazione. Le concentrazioni delle sostanze xenobiotiche rilevate nel sangue rappresentano l'effettiva quantità di sostanza presente al momento del prelievo.

Fattori come la tolleranza, la redistribuzione post-mortem, l'uso acuto rispetto a quello cronico e l'attivazione dei recettori, influenzano la concentrazione di sostanze xenobiotiche nel sangue intero, nel plasma o nel siero con effetti diversi tra gli individui. Per evitare il fenomeno della coagulazione, è opportuno che campioni di sangue intero vengano raccolti in provette contenenti conservanti ed anticoagulanti (per esempio, fluoruro di sodio e ossalato di potassio). Per quanto riguarda il fentanil, il rapporto sangue-plasma è pari a 0,8-1,0 mentre per il norfentanil è 1,0-1,3. Ulteriori rapporti sangue-plasma sono stati riportati per l'alfentanil (0,6) e il sufentanil (0,6-0,7) [56].

Per quanto riguarda i campioni post mortem, questi presentano una spiccata variabilità sia per quanto riguarda la qualità sia per l'omogenità. L'ideale per scopi di tossicologia forense sarebbe quello di campionare e analizzare il sangue femorale o periferico.

## *Urina*

L'urina rappresenta la matrice biologiche da utilizzare per dimostrare una precedente esposizione o un'esposizione storica alle sostanze d'abuso. In genere, dopo l'assorbimento, le sostanze d'abuso e/o i loro metaboliti sono presenti nelle urine con concentrazioni superiori rispetto al sangue. Nelle urine si riscontrano principalmente i metaboliti, attivi e non attivi, delle sostanze xenobiotiche assunte dal consumatore. La presenza di concentrazioni elevate permette di risalire ad un consumo di sostanze nel tempo più lungo (alcuni giorni) rispetto al sangue.

## **Altri campioni provenienti da individui deceduti**

### *Tessuti*

I campioni di tessuto, come il cervello, il fegato, i reni o il tessuto muscolare vicino al sito di iniezione, possono essere analizzati nelle indagini post mortem. In assenza di sangue o urina, come in seguito alla putrefazione del cadavere, i tessuti possono spesso essere utilizzati per rilevare e in alcuni casi quantificare una sospetta sostanza d'abuso; in questo caso il fegato rappresenta il campione ottimale. Tuttavia l'interpretazione dei dati ottenuti dall'analisi dei tessuti può risultare complessa. Per l'omogeneizzazione dei tessuti si raccomanda l'utilizzo di protocolli validati.

### *Umor vitreo*

L'umor vitreo, sostanza gelatinosa posta dietro il cristallino e davanti alla retina dell'occhio, è un'altra matrice alternativa consigliata per l'analisi tossicologiche post mortem, in quanto meno influenzato dai processi di putrefazione e dalla ridistribuzione delle sostanze che avviene post-mortem. Generalmente è possibile raccogliere solo 2-3 ml di matrice e le concentrazioni di sostanze riscontrate in esso sono spesso simili a quelle rilevate nel sangue.

### *Stabilità e conservazione*

È stato dimostrato che il fentanil è stabile nel plasma a temperatura ambiente per circa 6 ore mentre se il campione è conservato a -20°C la sua stabilità è di circa 6 mesi [57]. Nel sangue intero in presenza di fluoruro di sodio, il fentanil rimane stabile per 1 settimana se conservato a temperatura ambiente [58]. Per quanto riguarda le urine il fentanil e il norfentanil risultano stabili per circa 24 ore se i campioni sono conservati a temperatura ambiente o a 4°C [59]. Acetilfentanil, alfentanil, beta-idrossiofentanil, butirrifenilfentanil, carfentanil, fluorofentanil, fluoroisobutirrifenilfentanil, furanilfentanil, alfa-metilfentanil, parametilfenetilacetilfentanil, para-metossibutirrifenilfentanil, norfentanil e valerifenilfentanil, risultano tutti stabili nel sangue intero in presenza di fluoruro di sodio/ossalato di potassio per almeno 30 giorni sia se il campione è conservato a temperatura ambiente, sia se refrigerato o congelato.

L'acrilfentanil presente in un campione di sangue rimane stabile solo per un giorno se conservato a temperatura ambiente, sette giorni se conservato in frigorifero o un mese se posto in congelatore. La 4-anilino-N-fenetilpiperidina (4-ANPP) risulta stabile per quattordici giorni a temperatura ambiente e per trenta giorni se refrigerata o congelata.

Un campione viene considerato stabile se la perdita della sostanza presente è inferiore al 20% nel periodo di tempo specificato [60]. Le metodologie utilizzate per la determinazione del fentanil nei campioni tossicologici prevedono che questi ultimi siano conservati refrigerati o congelati fino al momento dell'analisi.

## Metodi di screening per i fentanili

### *Dosaggi immunochimici*

I dosaggi immunochimici sono comunemente utilizzati per lo screening preliminare di campioni biologici per identificare in modo presuntivo la presenza di sostanze xenobiotiche in maniera rapida ed economica con sistemi automatizzati. Il dosaggio immunochimico si basa sulla reazione antigene-anticorpo che a seconda della specificità dell'anticorpo può dare un risultato positivo o negativo fornendo quindi soltanto una informazione riguardante la presenza o l'assenza di una sostanza. Come illustrato di seguito, i dosaggi immunochimici possono presentare una reattività crociata con sostanze analoghe a quelle ricercate nel campione. Di conseguenza, questi dosaggi non possono essere utilizzati per escludere in modo affidabile la presenza ad esempio di analoghi del fentanil e pertanto è necessario prendere in considerazione altri metodi analitici quali quelli cromatografici associati a spettrometria di massa più sensibili e specifici.

### *Reattività crociata nota degli analoghi del fentanil nei comuni test immunologici*

La reattività crociata del fentanil e degli analoghi del fentanil nelle urine è stata descritta utilizzando un test di immunoassorbimento enzimatico (ELISA) sviluppato da Janssen Life Sciences. I nove analoghi inclusi nello studio e le loro cross-reattività a 2 ng/mL sono stati i seguenti: acetilfentanil (111%), para-metilfentanil (93%), para-fluorofentanil (87%), butirrilfentanil (77%), ( $\pm$ ) trans-3-metilfentanil (50%), alfametilfentanil (19%) e ( $\pm$ ) cis-3-metilfentanil (3%). Il benzilfentanil e l'alfentanil non hanno reagito in modo incrociato [61].

La reattività crociata degli analoghi del fentanil è stata valutata utilizzando il Neogen® fentanil ELISA con i seguenti risultati: è stata rilevata una reattività crociata inferiore all'1% per il 4-ANPP, il beta-idrossiofentanil e il norfentanil nel sangue e nelle urine, con l'eccezione dell'1,4% di reattività crociata per il beta-idrossiofentanil nelle urine.

Altri analoghi del fentanil hanno mostrato una reattività crociata nel sangue e nell'urina rispettivamente: acetilfentanil (31%/55%), butirrilfentanil (66%/78%) e furanilfentanil (63%/106%) [62].

Il fentanil, il para-fluorofentanil, il furanilfentanil, il butirrilfentanil e il 4-ANPP sono stati valutati per la reattività crociata sui kit ELISA per il fentanil e sulla tecnica di immunodosaggio multiplo enzimatico (EMIT). Le reattività crociate in tampone fosfato con il kit ELISA e nelle urine con il kit EMIT sono state rispettivamente butirrilfentanil (90%/88%), furanilfentanil (77%/74%) e para-fluorofentanil (47%/61%).

## 5.4 Preparazione del campione

Gli esempi riportati illustrano le modalità di preparazione dei campioni attraverso l'uso di i metodi validati e pubblicati.

### ***Estrazione liquido-liquido***

1. La metodica descritta è stata applicata a casi contenenti butirrilfentanil e acetilfentanil [63].

Ad 1 mL (millilitro) di campione (sangue, urina, fegato e contenuto gastrico) vengono aggiunti 2 mL di acqua deionizzata (DI) ed il campione viene agitato mediante vortex. Successivamente il campione viene alcalinizzato con l'aggiunta di 1 mL di idrossido di ammonio concentrato (28-30%) e una volta miscelato con il vortex viene addizionato con 6 mL di 1-clorobutano.

Il campione viene quindi agitato per 10 minuti, e successivamente centrifugato. Al termine del processo di centrifugazione al campione vengono aggiunti 200 mg (milligrammi) di solfato di sodio per evitare la formazione di emulsioni ed il campione viene nuovamente centrifugato.

Successivamente si trasferisce la fase organica in una nuova provetta e si aggiungono di 2 mL di acido cloridrico 1.0 M. Dopo aver agitato il campione per 10 minuti, si preleva la fase organica e la fase acquosa rimanente viene alcalinizzata con 1 mL di idrossido di ammonio concentrato.

Dopo agitazione, al campione, vengono aggiunti 3 mL di 1-clorobutano e dopo una ulteriore agitazione di 10 minuti si trasferisce la fase organica in una nuova provetta.

2. Questa metodica è stata applicata a casi contenenti 3-metilfentanil [64].

Un mL di campione (sangue) viene alcalinizzato con l'aggiunta di 300  $\mu$ L (microlitri) di tampone tris (pH 11) ed estratto in 500  $\mu$ L di acetato di etile. Il campione viene quindi centrifugato e la fase organica trasferita in una nuova provetta. Successivamente vengono aggiunti 75  $\mu$ L di acetato di ammonio (10 mM, 0,1% acido formico, pH 3,2) ed il campione viene portato a secco. Al residuo secco ottenuto mediante evaporazione sono stati aggiunti 75  $\mu$ L di acetonitrile, seguiti da 5 minuti di sonicazione e centrifugazione.

3. A 500  $\mu$ L di campione (plasma o urina) vengono aggiunti 500  $\mu$ L di una soluzione acquosa di carbonato di potassio (pH 12,3) e il campione viene agitato mediante vortex. Successivamente si aggiungono 7 mL di una miscela di n-esano ed acetato di etile (7:3) ed il campione viene agitato per 15 minuti, centrifugato e la fase organica viene utilizzata per l'analisi con GC-MS [65].

4. Questa metodica è stata utilizzata esclusivamente per la determinazione dell'acetilfentanil [66].

Un mL di campione (sangue, urina o umor vitreo) o 1 grammo di tessuto omogenato vengono estratti con cloruro di n-butile e idrossido di ammonio con una retro-estrazione acida.

### ***Estrazione in fase solida***

1. Questa metodica è stata utilizzata per rilevare U-47700 (3,4-dicloro-N-((1S,2S)-2-(dimetilamino)cicloesil)-N-metilbenzamide) e furanilfentanil [67].

A 500  $\mu$ L di campione (sangue) vengono aggiunti 2 mL di tampone fosfato 0,1 M (pH 6) ed il campione viene centrifugato. Una colonnina di estrazione a fase inversa e a scambio ionico (con fase di 130 mg) viene condizionata con 3 mL di metanolo, 3 mL di acqua deionizzata (DI) e 1 mL di tampone fosfato. Dopo l'applicazione del campione la colonna viene lavata con 1,5 mL di acqua DI, 0,5 mL di acido acetico 0,1 M, e 1,5 mL di metanolo. Il campione viene poi eluito con 2 mL di una miscela di etil acetato, isopropanolo, idrossido di ammonio (78:20:2) ed essiccato a 40°C.

2. Questa metodica è stata applicata per la determinazione di 16 oppioidi, tra cui para-metossibutirrilfentanil, acetilfentanil, butirrilfentanil, carfentanil, despropionilfentanil, fentanil, furanilfentanil, isobutirrilfentanil N-desmetil-U-47700, norfentanil, para-clorofentanil, parafluorobutirrilfentanil, para-fluoroisobutirrilfentanil, U-47700, valerilfentanil e beta-idrossitiofentanil [68].

A 500  $\mu$ L di campione (sangue o urina) vengono aggiunti 2 mL di tampone fosfato di potassio (pH 6). Il campione viene quindi sonicato per 15 minuti e centrifugato per 10 minuti. Una colonna Cerex Trace B (Tecan®, Männedorf, Svizzera) (35 mg) viene condizionata con 1 mL di metanolo seguito da 1 mL di tampone fosfato. Dopo l'applicazione del campione, la colonna viene lavata con 2 mL di acqua DI e 2 mL di acido acetico 100mM, fatta asciugare e successivamente lavata con 1 mL di metanolo e 1 mL di acetato di etile. Il campione viene quindi eluito con 1,2 mL di una miscela composta da acetato di etile, metanolo e idrossido di ammonio (93:5:2) in aliquote da 600  $\mu$ L.

3. Questa metodica è stata applicata a casi positivi per il fentanil [19].

Ad 1 mL di campione (sangue) vengono aggiunti 2 mL di tampone fosfato 0,1M (pH 6) e successivamente dopo agitazione su vortex il campione viene centrifugato. Una colonnina di estrazione in fase solida viene condizionata con 3 mL di una miscela costituita da cloruro di metilene, isopropanolo, idrossido di ammonio (78:20:2), e a seguire 3 mL di metanolo, 3 mL di acqua DI e 1 mL di tampone fosfato. Dopo l'applicazione del campione, la colonnina viene lavata con 3 mL di acqua DI, 1 mL di acido acetico 1,0 M, 2 mL di esano e 3 mL di metanolo. Il campione viene eluito con 3 mL di una miscela costituita da cloruro di metilene, isopropanolo, idrossido di ammonio (78:20:2) ed essiccato a 40°C.

## 5.5 Screening in gascromatografia/spettrometria di massa (GC-MS)

Di seguito è riportata come esempio una metodologia di screening nelle urine per le comuni sostanze d'abuso, tra cui fentanil, sufentanil, alfentanil e norfentanil, mediante l'utilizzo di un gascromatografo Agilent 7890 accoppiato a uno spettrometro di massa Agilent 5975A (Agilent Technologies). I limiti di rilevazione erano di 2 ng/mL per l'alfentanil e di 5 ng/mL per il fentanil e il sufentanil; le informazioni sugli spettri di massa sono riportate nella tabella 5 [69],

<b>Condizioni operative GC-MS</b>		
<b>Condizioni del forno GC:</b>	140°C per 0,4 minuti, aumento a 280°C alla velocità di 35°C/min, poi 118°C/min fino a 320°C e mantenimento per 1,5 minuti (tempo totale, 6,2 min).	
<b>Colonna</b>	5% fenilmetilpolisilossano (J&W DB-5), 10 m X 0,18 mm. i.d., spessore del film 0,18 µm	
<b>Parametri di iniezione:</b>	Modalità splitless	
	Temperatura iniettore:	270 °C
<b>Gas vettore:</b>	Elio, portata:	0,7 mL/min
<b>Rivelatore:</b>	Modalità di ionizzazione:	Modalità impatto elettronico (EI), 70 eV
	Parametri di scansione:	Modalità SIM/SCAN (m/z 51-550)
<b>Limite di rilevazione:</b>	2 ng/mL per l'alfentanil 5 ng/mL per fentanil e sufentanil	

Si sottolinea che i metodi GC/MS per il fentanil e per i suoi metaboliti e analoghi hanno in genere limiti di rilevabilità nell'intervallo compreso tra 1-10 ng/mL, valori che sono in genere troppo elevati rispetto alle concentrazioni tossicologiche significative dei composti più potenti, e pertanto non sono raccomandati quando sono disponibili alternative.

**Tabella 5. Ioni caratteristici dello spettro di massa e tempi di ritenzione per selezionati fentanili**

<b>Sostanza</b>	<b>Tempo di ritenzione (min)</b>	<b>Ioni caratteristici (m/z)</b>
Fentanil-D5	4.798	250, 194
Norfentanil-TMS	3.230	155, 154, 247, 289, 304
Fentanil	4.800	245, 146, 189, 202
Sufentanil	4.927	140, 187, 238, 289
Alfentanil	5.185	289, 222, 268, 359

## 5.6 Screening in cromatografia liquida/spettrometria di massa ad alta risoluzione (LC-HRMS)

Di seguito si riporta come esempio un metodo di screening che utilizza una cromatografia liquida ad altissime prestazioni Thermo Scientific Dionex Ultimate 3000 RSLC (Idstein, Germania) accoppiata a uno spettrometro di massa a trappola ionica AmaZon Speed™ di Bruker Daltonics.

Il metodo è stato sviluppato per l'identificazione qualitativa di 44 composti correlati agli oppioidi con un limite di rilevazione compreso tra 0,1 e 5 ng/mL per tutti gli analiti (i valori degli ioni sono riportati nella tabella 6) [70].

<b>Condizioni operative LC-MS</b>	
<b>LC:</b>	
<b>Colonna:</b>	Thermo Scientific Acclaim® RSLC 120 C18 (2,2 µm, 2,1 X 100 mm).
<b>Fase mobile:</b>	(A) formiato di ammonio 2 mM, acido formico 0,1%, acetonitrile 1% in acqua (B) 2 mM ammonio formiato, 0,1% acido formico, 1% di acqua in acetonitrile
<b>Gradiente:</b>	Iniziato al 99% di A, è stato regolato all'1% di A in 8 minuti e poi mantenuto per 3 minuti per consentire la riequilibrio.
<b>Velocità di flusso:</b>	500 µL/min
<b>Volume di iniezione:</b>	5 µL
<b>MS:</b>	
<b>Modalità di rivelazione e ionizzazione:</b>	Modalità di scansione con ionizzazione elettrospray positiva per un intervallo di massa compreso tra 70 e 800 m/z.

**Tabella 6. Ioni precursori mirati per fentanili selezionati e composti correlati agli oppioidi.**

Composto	Ione precursore (MS <sup>2</sup> ) <sup>a</sup>	Ione precursore (MS <sup>3</sup> ) <sup>b</sup>
3-Metilfentanil	351.19	–
6-O-Acetil morfina	328.08	–
Paracetamolo	151.91	110
Acetilfentanil	323	188
Acido Acetilsalicilico	178.92	137
Alfentanil	417.15	–
beta-idrossitiofentanil	359.22	341
Buprenorfina	468.27	–
Butirrilfentanil	351	188
Carfentanil	395.15	335.2
Codeina	300.04	–
Despropionil fentanil	281	188
Diidrocodone	302.08	–
EDDP	278.03	–
Fentanil	337.16	–
Furanilfentanil	375	188

Eroina	370.14	–
Idrocodone	300.08	–
Idromorfone	285.99	–
Ibuprofene	206.95	207
Meperidina	248.02	–
Metadone	310.1	265
Mitraginina	399.19	238
Morpina	286	–
Naloxone	328.1	310
Naltrexone	342.04	324
Naprossene	230.89	184.8
N-Desmetiltramadolo	250	232
Norbuprenorfina	414.4	–
Norcodeina	286.03	–
Norfentanil	233.07	–
Normorfina	271.96	–
Norossicodone	302.12	284
Noscapina	414	220
O-Desmetiltramadolo	250	232
Ossicodone	316.1	298
Ossimorfone	301.97	284
para-Fluorobutirrilfentanil	369	188
para-Fluoroisobutirrilfentanil	369	188
Acido Salicilico	136.96	93.2
Sufentanil	387.1	–
Tramadolo	264	246
U-47700	329	284
W-18	422	273

<sup>a</sup> ione genitore mirato per MS<sup>2</sup>, <sup>b</sup> ione genitore mirato per MS<sup>3</sup>

## 5.7 Analisi mirata/ metodi di conferma e metodi quantitativi

### *Cromatografia liquida con rivelazione UV (HPLC/UV)*

Nessuna metodologia pubblicata che utilizza questa strumentazione (HPLC/UV) è considerata idonea per la determinazione del fentanil e dei suoi analoghi anche a concentrazioni elevate. A tal proposito si fa presente che l'HPLC/UV non dovrebbe essere utilizzato per le determinazioni analitiche con finalità tossicologiche.

### *Gas cromatografia -spettrometria di massa (GC-MS)*

Di seguito si riporta come esempio una metodologia che utilizza un GC Agilent 6890 accoppiato a uno spettrometro di massa 5973 (Agilent Technologies). L'intervallo di linearità per il metodo riportato era 0,5-50 ng/mL con limite di rilevabilità pari a 0,08 ng/mL per tutti i composti ad eccezione dell'alfentanil che risulta essere di 0,04 ng/mL. I tempi di ritenzione e gli ioni dello spettro di massa sono riportati nella tabella 7 [55].

<b>Condizioni operative GC-MS</b>		
<b>Condizioni del forno GC:</b>	100°C per 1 minuto, aumentata a 200°C ad una velocità di 42°C/min, poi 15°C/min fino a 280°C e mantenuto per 12 minuti. 12 minuti,	
<b>Colonna</b>	5% fenilmetilsilicone (J&W DB-5), 30m X 0,25 mm. i.d., spessore del film 0,5 mm	
<b>Parametri di iniezione:</b>	Modalità splitless	
	Temperatura iniettore:	270 °C
<b>Gas vettore:</b>	Elio, portata:	0,7 mL/min
<b>Rivelatore:</b>	Modalità di ionizzazione:	Modalità impatto elettronico (EI), 70 eV
	Parametri di scansione:	Modalità SIM

**Tabella 7. Tempi di ritenzione e ioni dello spettro di massa utilizzati per l'identificazione mirata e quantificazione di composti selezionati del fentanil**

<b>Composto</b>	<b>Tempo di ritenzione (min)</b>	<b>Ioni (m/z) (ioni in grassetto usati per la quantificazione)</b>
Norfentanil (pentafluoropropionico)	12.8	<b>150</b> , 322, 229
Fentanil	17.7	<b>245</b> , 146, 189
Sufentanil	18.5	<b>289</b> , 140, 187
Alfentanil	21.1	<b>289</b> , 222, 268
Fentanil-D5	17.7	<b>250</b> , 151, 194

- A. Esempio di metodologia che utilizza un gascromatografo Agilent 7890 accoppiato a uno spettrometro di massa 5975 (Agilent Technologies). La separazione cromatografica è stata ottenuta utilizzando una colonna capillare Zebron ZB5-MS (15 m X 0,25 mm X 0,25 µm; Phenomenex, Torrance, California, Stati Uniti). La temperatura dell'iniettore è stata impostata a 250°C e l'iniettore utilizzato in modalità splitless. Il programma di temperatura del forno del gas cromatografo era il seguente: 100°C con rampa di 20°C/minuto fino a 290°C e mantenuta per 2 minuti. La rilevazione dello spettro di massa del butirrifentanil è avvenuta tramite selezione dei singoli ioni (SIM) L'intervallo di linearità era compreso tra 10-250 ng/mL con un limite di rilevabilità di circa 2 ng/mL [63].
- B. Esempio di metodologia che utilizza un gascromatografo Agilent 6890 accoppiato a uno spettrometro di massa 5973 (Agilent Technologies). La separazione cromatografica è stata ottenuta utilizzando una colonna RTX ms-1 (15 m X 250 µm X 0,25 mm; Restek, Bellefonte, Pennsylvania, Stati Uniti). La temperatura dell'iniettore è stata impostata a 250°C l'iniettore utilizzato in modalità splitless. Il programma di temperatura del forno del gas cromatografo era il seguente: da 100°C a 280°C a 20°C/minuto, rimanendo alla temperatura di 280°C per 1 minuto. La durata della corsa cromatografica era di 10 minuti. Per l'analisi di spettrometria di massa è stata utilizzata la modalità SIM per l'acetilfentanil. L'intervallo di linearità del metodo era compreso tra 125-2000 ng/mL con un limite di rilevabilità di 62,5 ng/mL [66].

Come si nota di seguito, gli effetti significativi dal punto di vista tossicologico del fentanil e dei suoi analoghi si verificano a concentrazioni inferiori a 1 ng/mL, quindi se un laboratorio ha solo la possibilità di effettuare analisi in GC-MS, è essenziale che stabilisca i propri limiti di rilevabilità e si assicuri che siano appropriati per lo scopo dell'analisi.

### Cromatografia liquida -spettrometria di massa tandem (LC-MS-MS)

Di seguito si riporta l'esempio di una metodologia analitica che utilizza un sistema LC Alliance® HT 2705 accoppiato a uno spettrometro di massa Quattro Premier (Waters). Lo spettrometro di massa è stato utilizzato con ionizzazione elettrospray positiva in modalità di monitoraggio multiplo delle reazioni (MRM) per fentanil, norfentanil, alfentanil, remifentanil, sufentanil e 3-metilfentanil (vedi tabella 8). Il metodo presenta un intervallo di linearità compreso tra 0,1-50 ng/mL [65].

Condizioni operative LC-MS	
<b>LC:</b>	
<b>Colonna</b>	Colonna Xterra® MS C18 (3,5 µm, 2,1 X 150 mm) e protezione per colonna Xterra® MS C18 (3,5 µm, 2,1 X 10 mm) (entrambe Waters Corporation) impostate a 60°C.
<b>Fase mobile:</b>	(A) 0,15% di acido formico in acqua (B) 0,15% di acido formico in acetonitrile
<b>Gradiente:</b>	Il gradiente è iniziato al 10% di B a 0,00 minuti ed è stato aumentato al 27% di B in 0,50 minuti, mantenuto per 8 minuti e riportato alle condizioni iniziali entro 0,10 minuti.  La colonna è stata lasciata equilibrare per 5 minuti (campione totale della corsa, 13,5 minuti).
<b>Velocità di flusso</b>	0,3 mL/min
<b>MS:</b>	
<b>Rivelatore:</b>	Modalità di ionizzazione: Ionizzazione elettrospray positiva
	Parametri di scansione: Modalità di monitoraggio delle reazioni multiple (MRM)
<b>Intervallo lineare</b>	0,1-50 ng/mL

**Tabella 8. Transizioni MRM, condizioni MS e tempi di ritenzione per l'identificazione mirata identificazione e quantificazione di composti selezionati di fentanil. (q) indica lo ione utilizzato per la quantificazione.**

Composto	Ione genitore (m/z)	Ione prodotto (m/z)	Volt del cono (V)	Energia di collisione (eV)	Tempo di ritenzione tempo (min)
Alfentanil	417.3	268.6 (q) 197.7	30 30	20 20	4.93
Fentanil	337.2	188.5 (q) 105.6	35 35	25 35	4.87
Sufentanil	387.6	238.2 (q) 355.7	30 30	20 20	6.72
3-Metilfentanil	351.5	202.4 (q) 105.6	40 40	25 35	5.70
Remifentanil	377.1	317.0 (q) 345	25 25	15 15	4.05
Norfentanil	233	84.0 (q) 176	25 25	20 15	3.61
Fentanil-D5	342.2	188.5 (q) 105.6	35 35	35 35	4.84
Norfentanil-D5	238	84.0 (q) 181.9	25 25	20 15	3.59

**A. Esempio di metodologia che utilizza un sistema di cromatografo liquido Agilent 1260 accoppiato a uno spettrometro di massa tandem 6460 (Agilent Technologies).**

La separazione cromatografica è stata effettuata utilizzando una colonna analitica Poroshell 120 EC-C18 (2,7  $\mu\text{m}$ , 2,1 X 100 mm) impostata a 40°C, e come fasi mobili formiato di ammonio 5mM e acido formico 0,1% in acqua ( fase A) e acetonitrile con acido formico 0,1% (fase B). Il gradiente inizia al 20% di fase B a 0,00 minuti, e viene mantenuto per 0,5 minuti per aumentare al 55% di fase B a 8 minuti, fino ad arrivare al 90% di fase B a 8,50 minuti. La colonna viene lasciata equilibrare per 3 minuti, e la durata della corsa cromatografica è di 11,50 minuti. Lo spettrometro di massa viene utilizzato con ionizzazione elettrospray positiva e in modalità (MRM). Il metodo è stato sviluppato per la determinazione di 16 nuovi composti oppioidi (4-metossi-butirrilfentanil, acetilfentanil, butirrilfentanil, carfentanil, despropionilfentanil, fentanil, furanilfentanil, isobutirrilfentanil, N-desmetil U-47700, norfentanil, para-clorofentanil, para-fluorobutirrifentanil, para-fluoroisobutirrifentanil, U-47700, valerilfentanil, beta-idrossitiofentanil) che presentavano limiti di rilevabilità compresi tra 0,01 0,5 ng/ml nel sangue e nelle urine [68].

**B. Esempio di metodologia che utilizza un cromatografo liquido ad alte prestazioni Agilent serie 1100 accoppiato a uno spettrometro di massa tandem 6430 (Agilent, Technologies).**

La separazione cromatografica è stata effettuata utilizzando una colonna ZORBAX Eclipse Plus C18 (3,5  $\mu\text{m}$ , 4,6 x 100 mm; Agilent, California, Stati Uniti) impostata a 40°C e come fasi mobili acido formico allo 0,1% in acqua (fase A) e acido formico allo 0,1% in metanolo (fase B). Il gradiente inizia al 40% di fase B, passando al 10% di fase B in cinque minuti e tornando al 40% di fase B a 5,5 minuti con un tempo totale di corsa cromatografica di 10 minuti. Lo spettrometro di massa è stato utilizzato in modalità di ionizzazione elettrospray positiva e MRM per U-47700, U-50488 (rel-3,4-dicloro-N-metil-N-[(1R,2R)-2-(1-pirrolidinil) cicloesil]-benzeneacetamide) e furanilfentanil ,con un intervallo di linearità compreso tra 5-500 ng/mL per U-47700 e U-50488 e tra i 1-100 ng/mL per furanilfentanil. Il limite di rilevabilità era di 0,5 ng/mL per tutti i composti [67].

***Cromatografia liquida-spettrometria di massa ad alta risoluzione***

Le analisi sono state eseguite su un UPLC Waters Acquity di classe I accoppiato a Waters G2-S Q-TOF (Waters, Milford, Stati Uniti). La separazione cromatografica è stata ottenuta utilizzando una colonna UPLC Acquity BEH C18 (1,7  $\mu\text{m}$ , 2,1 x 100 mm; Waters, Milford, Stati Uniti) impostata a 50°C e come fasi mobili acido formico allo 0,1% in acqua (fase A) e acido formico allo 0,1% in acetonitrile (fase B). Il gradiente inizia al 5% di fase B per 1 minuto aumentando al 15% di fase B a 6 minuti. Successivamente a 7 minuti, il gradiente raggiunge il 100% di fase mantenendo la modalità isocratica da 7 a 7,8 minuti e quindi riportato alle condizioni iniziali per 0,1 minuti, con un tempo totale di corsa di 10 minuti. Lo spettrometro di massa ha funzionato in modalità MS<sup>1</sup> con il quadrupolo in modalità di scansione, e passando da una energia di collisione bassa (6 eV) per la modalità full scan ad una energia di collisione da 15 a 30 eV per i dati sulla frammentazione. Il limite di quantificazione e il limite di rilevabilità erano rispettivamente 0,104 ng/mL e 0,031 ng/mL per il fentanil e 0,037 ng/mL e 0,011 ng/mL per il norfentanil [71].

## 6. Dati di riferimento per l'interpretazione dei risultati tossicologici del fentanil e di analoghi selezionati

### 6.1 Fentanil

Sono stati segnalati numerosi incidenti mortali legati al fentanil, con concentrazioni di fentanil nel sangue comprese tra 3 e 28 ng/mL; in confronto, le concentrazioni sieriche di riferimento sono comprese tra 1-2 ng/mL per l'analgesia e 10-20 ng/mL per l'anestesia [26,56]. Le concentrazioni di fentanil riportate in adulti deceduti per abuso transdermico, endovenoso e orale di cerotti di fentanil sono state rispettivamente di 18 ng/mL (range 4-54 ng/mL), 59 (range 3-383 ng/mL) e 28 ng/mL (7-97 ng/mL) [29,72]. Nei decessi correlati al solo fentanil, le concentrazioni medie nel sangue hanno subito un aumento nel tempo, con una serie di casi del 2003 che riportava un risultato medio di 9 ng/mL [73] e una serie di casi del 2014 che riportava una concentrazione media di 30 ng/mL [74]. In Australia è stato riportato un cluster di 9 decessi per eroina contenente fentanil con concentrazioni medie e mediane di 18 e 29 ng/mL (range <1-45) nel sangue femorale accompagnate da una concentrazione media e mediana di morfina di 140 e 80 ng/mL (range 20-400 ng/mL) [75]. La combinazione di eroina e fentanil è diventata un reperto tossicologico di routine nelle indagini sui decessi per sospetta overdose da oppioidi, ma anche il fentanil da solo comporta un aumento del rischio di overdose e di morte per i consumatori occasionali.

### 6.2 3-metilfentanil e alfa-metilfentanil

I decessi e le intossicazioni attribuiti al 3-metilfentanil e all'alfa-metilfentanil sono stati riportati tra la fine degli anni '70 e gli anni '80. I medici d'urgenza negli Stati Uniti hanno iniziato a sospettare della "White Cina" dopo un insolito aumento delle overdose da narcotici che si presentavano al dipartimento d'emergenza insieme a screening tossicologici che risultavano negativi per gli oppiacei nonostante l'inversione degli effetti con il naloxone [76,77]. L'agente causale di questi casi è stato analiticamente confermato essere il 3-metilfentanil, ma altri 15 decessi sono stati causati dall'alfa-metilfentanil [78]. In 122 decessi correlati al fentanil negli anni '80, la concentrazione media di fentanili trovata nel sangue (incluso fentanil, alfa-metilfentanil e 3-metilfentanil) era di 3,0 +/- 3,1 ng/mL [79]. Sebbene questo intervallo appaia coerente con le concentrazioni di riferimento nel siero per la gestione dell'analgesia con fentanil, questa media include i risultati dell'alfa-metilfentanil e del (+) 3-metilfentanil, che sono entrambi più potenti del fentanil di un fattore pari a 1,1 e 16 rispettivamente [79,80]. Le concentrazioni di alfa-metilfentanil negli incidenti mortali riportati erano in media di 7 ng/mL (2-11 ng/mL) [56]. Nel 2005-2006 sono stati segnalati più di 110 decessi per 3-metilfentanil in Estonia, dove la concentrazione media combinata di isomeri cis e trans tra i casi è stata di 1,9 ng/mL, 10 volte inferiore alla concentrazione media di fentanil nei decessi fentanil-correlati [81]. Per i casi che coinvolgevano solo il 3-metilfentanil, il cis-3-metilfentanil variava da 0,06 a 2,59 ng/mL (n=50) e il trans da 0,19 a 1,91 ng/mL (n=49). Nei decessi che hanno coinvolto il 3-metilfentanil nella contea di Cuyahoga, Ohio, Stati Uniti, nel 2016, le concentrazioni erano nell'intervallo 0,15-1,7 ng/mL [82].

### 6.3 Acetilfentanil

L'acetilfentanil ha guadagnato popolarità negli Stati Uniti nel 2013 dopo la segnalazione di 14 decessi nel Rhode Island. Successivamente sono stati segnalati decessi per overdose correlati all'acetilfentanil in Pennsylvania, California, Louisiana, North Carolina e Oregon [83,84]. Quarantuno decessi per overdose correlati all'acetilfentanil in Pennsylvania presentavano concentrazioni ematiche con mediana e media di 11 e 169 ng/mL, (range 0,13-2100 ng/mL); tutti i casi, tranne uno, sono stati classificati come tossicità da policonsumo (acetilfentanil nel sangue = 170 ng/mL) con il fentanil stesso rilevato in 26 casi e l'eroina in 22

[85]. Le concentrazioni di acetilfentanil nel sangue periferico riportate in quattro casi erano nel range 310-600 ng/mL quando l'acetilfentanil era l'unica sostanza presente e 6-12 ng/mL quando le concentrazioni di fentanil erano nel range 15-21 ng/mL (n=3) [86]. L'acetilfentanil è stato confermato in una serie di intossicazioni non fatali segnalate nei pronto soccorso in Svezia tra aprile e novembre 2015: Le concentrazioni della sostanza nel siero (n=7) variavano da 0,6 a 51,6 ng/mL [10]. In Europa, l'acetilfentanil è stato confermato in 1 decesso nel 2013, 2 nel 2014 e 29 nel 2015 ed in 19 di tali decessi, l'acetilfentanil è stato la causa o la concausa del decesso [87].

#### **6.4 Butirrilfentanil**

Il butirrilfentanil è stato segnalato per la prima volta dal Sistema di Allerta Precoce gestito dall'Osservatorio Europeo delle Droghe e delle Tossicodipendenze e da Europol in seguito a sequestri avvenuti in Polonia nell'estate del 2013, prima della sua comparsa negli Stati Uniti nel 2014 [12]. La Svezia ha segnalato i primi sequestri nell'aprile 2014: due intossicazioni giunte al pronto soccorso presentavano concentrazioni sieriche di 0,9 e 0,6 ng/mL, con concentrazioni concomitanti di fentanil di 4,3 e 10,2 ng/mL [12]. Un'intossicazione da butirrilfentanil negli Stati Uniti ha coinvolto un ragazzo di 18 anni che è sopravvissuto a un'overdose, ma che ha sofferto di emottisi clinicamente significativa, lesioni polmonari acute, insufficienza respiratoria ipossica ed emorragia alveolare diffusa dopo aver sniffato una polvere bianca, che è stata successivamente identificata come butirrilfentanil mediante gascromatografia - spettrometria di massa [88]. Il butirrilfentanil può subire una redistribuzione post-mortem come dimostrato dall'analisi del butirrilfentanil in più campioni accoppiati di sangue cardiaco e periferico. I risultati del sangue periferico variavano da 3,7 a 99 ng/mL in 4 decessi [50,63,89].

#### **6.5 Furanilfentanil**

Nel 2016, Helander et al. hanno riportato concentrazioni sieriche di furanilfentanil di 4,4-148 ng/mL in casi di intossicazioni non letali che si presentavano al pronto soccorso; tuttavia, la sopravvivenza all'intossicazione da furanilfentanil in questi casi può essere attribuita al trattamento tempestivo e al supporto respiratorio, poiché queste concentrazioni ante mortem sono sovrapponibili a quelle osservate nei decessi [10]. Il furanilfentanil è stato confermato in otto casi post mortem con concentrazioni ematiche comprese tra 2,5 e 76 ng/mL (media e deviazione standard e mediana:  $26 \pm 28$  e 12,9 ng/mL, rispettivamente) [67]. Nel corso di quattro mesi tra il 2015 e il 2016, in Svezia si è verificato un gruppo di sette intossicazioni fatali da furanilfentanil, in cui il composto da solo o in combinazione con altre sostanze, è stata determinato quale causa di morte con concentrazioni che variavano da 0,43 a 2,89 ng/mL. [90].

#### **6.6 Carfentanil**

Il carfentanil è stato identificato in sequestri di droga avvenuti in Lettonia nel 2013 [91]. Nel luglio 2016, il carfentanil è comparso sulla scena delle droghe ricreazionali in combinazione con l'eroina negli Stati Uniti. Successivamente è stato coinvolto in un gran numero di overdose e decessi. Le prime segnalazioni si sono avute in Michigan, Ohio e Florida. Nel nord-est dell'Ohio, in un periodo di 30 giorni sono stati registrati oltre 25 decessi attribuiti al carfentanil; tra due contee sono stati segnalati 165 decessi dovuti al carfentanil da solo o in combinazione con eroina e fentanil [82]. Le concentrazioni ematiche di carfentanil erano comprese tra 0,11 e 0,88 ng/mL. Quando circa 500 casi post mortem sono stati sottoposti ad analisi tossicologiche presso l'ufficio del medico legale della contea di Miami-Dade in un periodo di sei mesi, 134 casi sono risultati positivi al carfentanil e di questi, 104 erano risultati inizialmente negativi dall'analisi

gascromatografica/spettrometria di massa [70]. In un periodo di quattro mesi nell'ultima metà del 2016, il carfentanil è stato identificato in 262 campioni di sangue post mortem, con concentrazioni medie e mediane di 0,193 e 0,098 ng/mL (intervallo da 0,010 a 2,0 n/mL) [92]. Il carfentanil è stato segnalato anche in casi di guida sotto l'effetto di sostanze; sei casi sono stati segnalati a West Palm Beach, in Florida, con concentrazioni che variavano da 0,0115-0,125 ng/mL nel sangue [93]. Altri casi di intossicazione non fatale (n=1) e di guida alterata (n=2) hanno avuto risultati nel siero e nel sangue di 0,6 e 0,013-0,043 ng/mL [94,95]. Queste segnalazioni di rilevamento di carfentanil negli Stati Uniti sono tra le prime riportate in letteratura riguardanti carfentanil venduto intenzionalmente per abuso ricreativo; l'unica segnalazione precedente riguardava un'esposizione accidentale durante un tentativo di tranquillizzare grandi animali [96].

## 6.7 Acrilfentanil

L'acrilfentanil ha seguito la comparsa sul mercato illecito del carfentanil e del furanilfentanil; la sua prima identificazione riportata in letteratura risale al maggio 2016 in Danimarca [97]. L'acrilfentanil è stato rilevato in almeno 20 intossicazioni non mortali; in otto di questi casi, l'acrilfentanil è stato confermato nel siero (0,5-2,1 ng/mL) [15]. Tra aprile e ottobre 2016, in Svezia si è verificata una serie di 40 intossicazioni letali in cui la presenza di acrilfentanil è stata determinata come la causa principale o una concausa del decesso; le concentrazioni variavano da 0,01 a 5,27 ng/mL [98]. Di questi 40 casi, solo due riguardavano l'acrilfentanil come unica causa di intossicazione e l'acrilfentanil è stato confermato a 0,01 e 0,02 ng/mL. Nel 2016, in Europa si sono verificati 47 decessi analiticamente confermati associati all'acrilfentanil; 43 dei quali in Svezia, ma anche la Danimarca (n=1) e l'Estonia (n=3) hanno riportato decessi. Oltre ai tre Paesi elencati, anche Finlandia, Lettonia e Slovenia hanno segnalato la presenza di acrilfentanil [36].

## 6.8 Altri analoghi del fentanil

Oltre ai composti sopra descritti, sono stati segnalati sporadicamente altri analoghi del fentanil, tra cui il para-fluorobutirrilfentanil, il para-fluoroisobutirrilfentanil, il para-metossibutirrilfentanil, l'orto-fluorofentanil e l'ocfentanil. L'allegato 1 riporta casi specifici per queste molecole e per i composti precedentemente elencati. Nel 2015 e nel 2016 sono comparsi diversi nuovi analoghi del fentanil. L'ufficio del medico legale della contea di Miami-Dade ha segnalato il rilevamento di nuove molecole, tra cui il beta-idrossiofentanil (n=9), il para-fluoroisobutirrilfentanil (n=22) e l'U-47700 (n=4) [2]. Le intossicazioni fatali con analoghi del fentanil in Svezia tra il 2015 e il 2016 hanno riguardato principalmente l'acetilfentanil (n=34) e l'acrilfentanil (n=43); inoltre, sono stati segnalati anche il para-fluoroisobutirrifentanil (n=14), il furanilfentanil (n=10), il para-cloroisobutirrifentanil (n=3), il tetraidrofuranfentanil (n=5), il para-metossibutirrifentanil (n=2), il para-fluorobutirrifentanil (n=1) e il butirrilfentanil (n=1) [4]. Il fentanil e i suoi analoghi sono stati rilevati in casi di intossicazioni con ricoveri ospedalieri, nei casi di guida in stato di alterazione e nelle morti droga correlate. La triade di sintomi da oppioidi, depressione del SNC, pupille miotiche e depressione respiratoria sono segni clinici comuni osservati nei casi che si presentano ai Pronto Soccorso. Inoltre, sono stati documentati segni di intossicazione (sonnolenza, disattenzione, rallentamento dei riflessi) che portano a una compromissione cognitiva e psicomotoria. Gli effetti negativi degli oppioidi possono essere esacerbati anche in combinazione con altri depressori del SNC, come l'alcol o le benzodiazepine. Il fentanil e i suoi analoghi devono essere tenuti in considerazione dal personale ospedaliero, dai soccorritori di emergenza, dai medici legali, dagli investigatori e dagli agenti di polizia quando nel caso di intossicazioni sospette da oppioidi, soprattutto quando i test immunochimici ospedalieri sono negativi o i risultati presuntivi positivi non possono essere confermati.

## Bibliografia

- [1] P. A. J. Janssen, in *Opioids in Anesthesia*, Butterworth Publishers, 1984, p. 37–44.
- [2] World Health Organization, WHO model list of essential medicines. (2017) [online]. Available at: <http://www.who.int/medicines/publications/essentialmedicines/en/> [Accessed 22 Sep.2017].
- [3] P. A. J. Janssen, 1-Aralkyl-4-(n-Aryl-Carbonyl Amino)-Piperidines and Related Compounds, 1965, US3164600 A. [4] G. L. Henderson, *J. Forensic Sci.* 1988, 33, p. 569–575.
- [5] R. M. Baum, *Chemical and Engineering News* 1985.
- [6] J. Mounteney, I. Giraudon, G. Denissov, P. Griffiths, *International Journal of Drug Policy* 2015, 26, p. 626–631.
- [7] European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction, *Fentanyl in Europe: EMCDDA Trendspotter Study*, 2012.
- [8] United States Department of Justice Drug Enforcement Administration, Diversion Control Division National Forensic Laboratory Information System, NFLIS Brief: Fentanyl, 2001-2015, 2017.
- [9] United States Department of Justice Drug Enforcement Administration, Diversion Control Division, Drug and Chemical Evaluation Section, *Fentanyl*, 2016.
- [10] A. Helander, M. Bäckberg, O. Beck, *Clinical Toxicology* 2016, 54, p. 324–332.
- [11] A. Helander, M. Bäckberg, P. Signell, O. Beck, *Clinical Toxicology* 2017, 55, p. 589–599.
- [12] M. Bäckberg, O. Beck, K.-H. Jönsson, A. Helander, *Clinical Toxicology* 2015, 53, p. 609–617.
- [13] R. G. Frank, H. A. Pollack, *New England Journal of Medicine* 2017, 376, p. 605–607.
- [14] R. Kronstrand, H. Druid, P. Holmgren, J. Rajs, *Forensic Science International* 1997, 88, p. 185–195.
- [15] Canadian Centre on Substance Candian Community Epidemiology Network on Drug Use, CCENDU Bulletin: Novel Synthetic Opioids in Counterfeit Pharmaceuticals and Other Illicit Street Drugs, 2016.
- [16] United States Department of Justice Drug Enforcement Administration, 2016 National Drug Threat Assessment Summary, 2016.
- [17] Cuyahoga F., Hamilton L. Increases in Fentanyl-Related Overdose Deaths— Florida and Ohio, 2013–201
- [18] R. M. Gladden, *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2016, 65, DOI 10.15585/mmwr.mm6533a2.
- [19] D. Lee, C. W. Chronister, W. A. Broussard, S. R. Uteley-Bobak, D. L. Schultz, R. S. Vega, B. A. Goldberger, *Journal of Analytical Toxicology* 2016, 40, p. 588–594.
- [20] L. J. Marinetti, B. J. Ehlers, *Journal of Analytical Toxicology* 2014, 38, p. 592–598.
- [21] J. G. Thompson, A. M. Baker, A. H. Bracey, J. Seningen, J. S. Kloss, A. Q. Strobl, F. S. Apple, *Journal of Forensic Sciences* 2007, 52, p. 978–981.
- [22] S. C. Wong, J. A. Curtis, W. E. Wingert, *Journal of Forensic Sciences* 2008, 53, p. 495–498.
- [23] United Nations, *Recommended Guidelines for Quality Assurance and Good Laboratory Practices: Manual for Use by National Laboratories*, 1995.

- [24] American College of Medical Toxicology (ACMT) and American Academy of Clinical Toxicology (AACT), ACMT and AACT Position Statement: Preventing Occupational Fentanyl and Fentanyl Analog Exposure to Emergency Responders, 2017.
- [25] A. Giorgetti, C. Centola, R. Giorgetti, *Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental* 2017, 32, e2605.
- [26] T. H. Stanley, *The Journal of Pain* 2014, 15, p. 1215–1226.
- [27] C. K. M. W. Schauer, J. A. D. Shand, T. M. Reynolds, *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* 2015, 117, p. 358–359.
- [28] A. M. Young, J. R. Havens, C. G. Leukefeld, *Harm reduction journal* 2010, 7, p. 24.
- [29] K. L. Woodall, T. L. Martin, B. A. McLellan, *Journal of Forensic Sciences* 2008, 53, p. 222–225.
- [30] European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction, *The Internet and Drug Markets*, 2016.
- [31] K. A. Marquardt, R. S. Tharratt, *J. Toxicol. Clin. Toxicol.* 1994, 32, p. 75–78. [32] R. S. Vardanyan, V. J. Hruby, *Future Medicinal Chemistry* 2014, 6, p. 385–412.
- [33] B. L. Kieffer, *Trends in pharmacological sciences* 1999, 20, p. 19–26.
- [34] I. Buajordet, A.-C. Naess, D. Jacobsen, O. Brørs, *European Journal of Emergency Medicine* 2004, 11, p. 19–23.
- [35] Stanley, T.H., *Anesthesia for the 21st century, Proceedings (Baylor University. Medical Center)*, 2000-1, volume 13, issue 1, p. 7-10.
- [36] I. Ujváry, R. Jorge, R. Christie, T. Le Ruez, H. V. Danielsson, R. Kronstrand, S. Elliott, A. Gallegos, R. Sedefov, M. Evans-Brown, *Forensic Toxicology* 2017, 35, p. 232–243.
- [37] Y. Higashikawa, S. Suzuki, *Forensic Toxicology* 2008, 26, p. 1–5.
- [38] B.-S. Huang, R. C. Terrell, K. H. Deutsche, L. V. Kudzma, N. L. Lalinde, *N-Aryl-N-(4-Piperidinyl)Amides and Pharmaceutical Compositions and Method Employing Such Compounds*, 1986, US4584303 A.
- [39] P. M. Wax, C. E. Becker, S. C. Curry, *Annals of Emergency Medicine* 2003, 41, p. 700–705.
- [40] W. Van Bever, C. Niemegeers, K. Schellekens, P. Janssen, *Arzneimittel- Forschung* 1976, 26, p. 1548–51.
- [41] Y. Zhu, B. Ge, S. Fang, Y. Zhu, Q. Dai, Z. Tan, Z. Huang, X. Ghen, *Yaoxue Xuebao [Acta Pharmaceutica Sinica]* 2001, 16, p. 199–210.
- [42] W. Van Bever, C. Niemegeers, P. Janssen, *Journal of Medicinal Chemistry* 1974, 17, p. 1047–1051.
- [43] M. Essawi, *Pharmazie* 1999, 54, p. 307–308.
- [44] E. Schneider, K. Brune, *Naunyn-Schmiedeberg’s archives of pharmacology* 1986, 334, p. 267–274.
- [45] M. R. Meyer, J. Dinger, A. E. Schwaninger, D. K. Wissenbach, J. Zapp, G. Fritschi, H. H. Maurer, *Anal Bioanal Chem* 2012, 402, p. 1249–1255.
- [46] A. B. Melent’ev, S. S. Kataev, O. N. Dvorskaya, *J Anal Chem* 2015, 70, p. 240–248.
- [47] S. Watanabe, S. Vikingsson, M. Roman, H. Green, R. Kronstrand, A. Wohlfarth, *AAPS J* 2017, DOI 10.1208/s12248-017-0070-z.

- [48] M. M. Goggin, A. Nguyen, G. C. Janis, *Journal of Analytical Toxicology* 2017, 41, p. 367–375.
- [49] A. E. Steuer, E. Williner, S. N. Staeheli, T. Kraemer, *Drug Testing and Analysis* 2017, 9, p. 1085–1092.
- [50] S. N. Staeheli, M. R. Baumgartner, S. Gauthier, D. Gascho, J. Jarmer, T. Kraemer, A. E. Steuer, *Forensic Science International* 2016, 266, p. 170–177.
- [51] M. G. Feasel, A. Wohlfarth, J. M. Nilles, S. Pang, R. L. Kristovich, M. A. Huestis, *AAPS J* 2016, 18, p. 1489–1499.
- [52] S. Sato, S. Suzuki, X.-P. Lee, K. Sato, *Forensic Science International* 2010, 195, p. 68–72.
- [53] L. M. Labay, T. J. Gallagher, M. Friscia, D. Buzby, F. X. Diamond, B. D. Holsey, S. A. Keeling, B. K. Logan, *National Association of Medical Examiners Annual Meeting, Minneapolis MN Meeting 2016* 2016.
- [54] D. E. Feierman, J. M. Lasker, *Drug Metab. Dispos.* 1996, 24, p. 932–939.
- [55] S. Strano-Rossi, I. Alvarez, M. J. Taberner, P. Cabarcos, P. Fernández, A. M. Bermejo, *J Appl Toxicol* 2011, 31, p. 649–654.
- [56] R.C. Baselt. *Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man*, 11th edition, Biomedical Publications, Seal Beach, CA, 2017, ISBN 978-0-692-77499-1
- [57] Y.-W. Chang, H.-T. Yao, Y.-S. Chao, T.-K. Yeh, *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* 2007, 857, p. 195–201.
- [58] R. Karinen, E. L. Oiestad, W. Andresen, G. Wethe, A. Smith-Kielland, A. Christophersen, *J Anal Toxicol* 2010, 34, p. 420–428.
- [59] F. Badoud, E. Grata, L. Perrenoud, L. Avois, M. Saugy, S. Rudaz, J.-L. Veuthey, *J Chromatogr A* 2009, 1216, p. 4423–4433.
- [60] B. K. Logan, *NMS Labs Stability Data*, personal communication
- [61] W. Ruangyuttikarn, M. Y. Law, D. E. Rollins, D. E. Moody, *Journal of analytical toxicology* 1990, 14, p. 160–164.
- [62] N. B. Tiscione, K. Wegner, *Journal of Analytical Toxicology* 2017, DOI 10.1093/jat/bkx005.
- [63] I. M. McIntyre, A. Trochta, R. D. Gary, J. Wright, O. Mena, *J Anal Toxicol* 2016, 40, p. 162–166.
- [64] I. Ojanperä, M. Gergov, I. Rasanen, P. Lunetta, S. Toivonen, E. Tiainen, E. Vuori, *Am J Forensic Med Pathol* 2006, 27, p. 328–331.
- [65] S. Cooreman, C. Deprez, F. Martens, J. Van Bocxlaer, K. Croes, *J Sep Sci* 2010, 33, p. 2654–2662.
- [66] C. Fort, B. Curtis, C. Nichols, C. Niblo, *J Anal Toxicol* 2016, 40, p. 754–757.
- [67] A. L. A. Mohr, M. Friscia, D. Papsun, S. L. Kacinko, D. Buzby, B. K. Logan, *Journal of Analytical Toxicology* 2016, 40, p. 709–717.
- [68] J. Seither, L. Reidy, *Journal of Analytical Toxicology* 2017, p. 1–5.
- [69] S. Strano-Rossi, A. M. Bermejo, X. de la Torre, F. Botrè, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 2011, 399, p. 1623–1630.
- [70] E. N. Shoff, M. E. Zaney, J. H. Kahl, G. W. Hime, D. M. Boland, *Journal of Analytical Toxicology* 2017, p. 1–9.

- [71] J. Viaene, K. Lanckmans, B. Dejaegher, D. Mangelings, Y. Vander Heyden, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2016, 127, p. 49–59.
- [72] T. L. Martin, K. L. Woodall, B. A. McLellan, *J Anal Toxicol* 2006, 30, p. 603–610.
- [73] J. J. Kuhlman, R. McCaulley, T. J. Valouch, G. S. Behonick, *Journal of analytical toxicology* 2003, 27, p. 499–504.
- [74] D. D. Lung, N. P. Lemos, *Forensic Toxicology* 2014, 32, p. 118–125.
- [75] L. N. Rodda, J. L. Pilgrim, M. Di Rago, K. Crump, D. Gerostamoulos, O. H. Drummer, *Journal of Analytical Toxicology* 2017, 41, p. 318–324.
- [76] M. Martin, J. Hecker, R. Clark, J. Frye, D. Jehle, E. J. Lucid, F. Harcheiroad, *Annals of Emergency Medicine* 1991, 70, p. 158–164.
- [77] J. Hibbs, J. Perper, C. L. Winek, *JAMA* 1991, 265, p. 1011–1013.
- [78] T. C. Kram, D. A. Cooper, A. C. Allen, *Analytical chemistry* 1981, 53, 1379A–1386A.
- [79] G. L. Henderson, *Journal of Forensic Sciences* 1991, 36, p. 422–433.
- [80] S. Vuckovic, M. Prostran, M. Ivanovic, L. Dosen-Micovic, Z. Todorovic, Z. Nestic, R. Stojanovic, N. Divac, Z. Mikovic, *Current medicinal chemistry* 2009, 16, p. 2468–2474.
- [81] I. Ojanperä, M. Gergov, M. Liiv, A. Riikoja, E. Vuori, *Int. J. Legal Med.* 2008, 122, p. 395–400.
- [82] S. Sofalvi, H. E. Schueler, E. S. Lavins, C. K. Kaspar, I. T. Brooker, C. D. Mazzola, D. Dolinak, T. P. Gilson, S. Perch, *Journal of Analytical Toxicology* 2017, p. 1–11.
- [83] M. J. Lozier, M. Boyd, C. Stanley, L. Ogilvie, E. King, C. Martin, L. Lewis, *Journal of Medical Toxicology* 2015, 11, p. 208–217.
- [84] M. C. Mercado, S. A. Sumner, M. B. Spelke, M. K. Bohm, D. E. Sugerman, C. Stanley, *Pain Med* 2017, DOI 10.1093/pm/pnx015.
- [85] J. B. Dwyer, J. Janssen, T. M. Luckasevic, K. E. Williams, *Journal of Forensic Sciences* 2017, DOI 10.1111/1556-4029.13517.
- [86] J. Poklis, A. Poklis, C. Wolf, M. Mainland, L. Hair, K. Devers, L. Chrostowski, E. Arbefeville, M. Merves, J. Pearson, *Forensic Science International* 2015, 257, p. 435–441.
- [87] R. Jorge, R. Christie, A. Almeida, M. Evans-Brown, A. Gallegos, R. Sedefov, D. Dudek, *Acetyl Fentanyl: EMCDDA-Europol Joint Report on a New Psychoactive Substance N-Phenyl-N-[1-(2-Phenethyl)Piperidin-4-Yl]Acetamide (Acetylfentanyl)*, European Monitoring Centre For Drugs And Drug Addiction, Luxembourg, 2016.
- [88] J. B. Cole, J. F. Dunbar, S. A. McIntire, W. E. Regelman, T. M. Slusher, *Pediatrics* 2015, 135, e740–e743.
- [89] J. Poklis, A. Poklis, C. Wolf, C. Hathaway, E. Arbefeville, L. Chrostowski, K. Devers, L. Hair, M. Mainland, M. Merves, et al., *Journal of Analytical Toxicology* 2016, 40, p. 703–708.
- [90] D. Guerrieri, E. Rapp, M. Roman, H. Druid, R. Kronstrand, *Journal of Analytical Toxicology* 2017, DOI 10.1093/jat/bkw129.
- [91] European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction, *New Drugs in Europe*, 2012, 2012.
- [92] K. G. Shanks, G. S. Behonick, *Journal of Analytical Toxicology* 2017, p. 1–7.

- [93] N. B. Tiscione, R. Miller, X. Shan, D. Tate Yeatman, *Journal of Analytical Toxicology* 2017, p. 1–6.
- [94] S. Müller, S. Nussbaumer, G. Plitzko, R. Ludwig, W. Weinmann, S. Krähenbühl, E. Liakoni, *Clinical Toxicology* 2017, p. 1–2.
- [95] N. B. Tiscione, K. G. Shanks, *TOXTALK* 2016, 40, 14–17.
- [96] A. V. George, J. J. Lu, M. V. Pisano, J. Metz, T. B. Erickson, *Am J Emerg Med* 2010, 28, p. 530–532.
- [97] T. Breindahl, A. Kimergård, M. F. Andreasen, D. S. Pedersen, *Drug Testing and Analysis* 2017, 9, p. 415–422.
- [98] D. Guerrieri, E. Rapp, M. Roman, G. Thelander, R. Kronstrand, *Forensic Science International* 2017, DOI 10.1016/j.forsciint.2017.05.010.
- [99] T. J. Gillespie, A. J. Gandolfi, T. P. Davis, R. A. Morano, *Journal of analytical toxicology* 1982, 6, p. 139–142.
- [100] I. Takase, T. Koizumi, I. Fujimoto, A. Yanai, T. Fujimiya, *Legal Medicine* 2016, 21, p. 38–44.
- [101] S. M. Cunningham, N. A. Haikal, J. C. Kraner, *Journal of Forensic Sciences* 2016, 61, S276–S280.
- [102] I. M. McIntyre, A. Trochta, R. D. Gary, M. Malamatos, J. R. Lucas, *Journal of Analytical Toxicology* 2015, 39, p. 490–494.
- [103] K. Yonemitsu, A. Sasao, S. Mishima, Y. Ohtsu, Y. Nishitani, *Forensic Science International* 2016, 267, e6–e9.
- [104] M. Rojkiewicz, M. Majchrzak, R. Celiński, P. Kuś, M. Sajewicz, *Drug Testing and Analysis* 2017, 9, p. 405–414.
- [105] A. Helland, W. R. Brede, L. S. Michelsen, P. O. M. Gundersen, H. Aarset, J. E. Skjøllås, L. Slørdal, *Journal of Analytical Toxicology* 2017, p. 1–2.
- [106] F. E. Dussy, S. Hangartner, C. Hamberg, C. Berchtold, U. Scherer, G. Schlotterbeck, D. Wyler, T. A. Briellmann, *Journal of Analytical Toxicology* 2016, 40, p. 761–766.
- [107] V. Coopman, J. Cordonnier, M. De Leeuw, V. Cirimele, *Forensic Science International* 2016, 266, p. 469–473.
- [108] D. M. Swanson, L. S. Hair, S. R. Strauch Rivers, B. C. Smyth, S. C. Brogan, A. D. Ventoso, S. L. Vaccaro, J. M. Pearson, *Journal of Analytical Toxicology* 2017, p. 1–5.

**ALLEGATO I. SINOSI DEI CASI DI INTOSSICAZIONE E DECESSI  
ANALITICAMENTE CONFERMATI PER LA PRESENZA DI FENTANIL E DEI  
SUOI ANALOGHI**

<b>Sostanza</b>	<b>Storia</b>	<b>Sintomi clinici/riscontri autoptici</b>	<b>Risultati analitici (ng/mL se non specificato)</b>	<b>Riferimenti bibliografici</b>
3-Metilfentanil	Uomo di 30 anni trovato morto nella sua abitazione dopo essere uscito di prigione. Sulla scena parafernalia da iniezione	Infiammazione e degenerazione grassa del fegato	Sangue: 0,4 (cis) + idrossizina 700, fluoxetina 400, clozapina 200, amfetamina 32 mg/L	[64]
	Donna di 41 anni trovata morta nella sua abitazione. Sulla scena parafernalia da iniezione	N/A	Sangue: 0,3 (cis) + EtOH, 0,077 g/ dL, amfetamina 650	[64]
	Uomo di 35 anni trovato morto in un bagno pubblico. Sulla scena parafernalia da iniezione	Cirrosi e degenerazione grassa del fegato	Sangue: 0,9 (cis) + diazepam 100, nordiazepam 300, morfina 30	[64]
alfa-metilfentanil	Uomo di 28 anni soccorso dai paramedici in paralisi respiratoria. Dichiarato morto in ospedale	Iperemia, edema polmonare, epatosplenomegalia congestizia, linfonodo prominente nella porta epatica	Sangue: 3,1 Fegato: 78 Bile: 6,4	[99]
Acetilfentanil	Uomo di 28 anni con prescrizione di ossicodone e pregabalin. Si è recato al Pronto Soccorso dopo aver fatto uso di fludiazepam	Apnea, naloxone somministrato per via endovenosa durante il trasporto in ambulanza	Urine: 685 ng/mmol di creatinina + urine: flubromazolam, pregabalin e ossicodone	[10]
	Uomo di 27 anni portato al pronto soccorso dopo uso di acetilfentanil	Pupille miotiche. Intubazione e supporto ventilatorio necessari a causa dell'aspirazione. Degenza di 28 giorni in terapia intensiva a causa di agitazione grave, delirio e ipertermia ricorrenti	Siero: 19.1 Urine: 85,5 ng/mmol di creatinina	[10]
	Uomo di 22 anni portato al pronto soccorso dopo aver ingerito NPS sconosciute, clonazepam e alcol	Degenza ospedaliera di 7 giorni. Pronunciato rabdomiolisi	Siero: 14.8 Urine: 154 ng/mmol di creatinina + 7-ammino clonazepam e EtOH	[10]

<b>Sostanza</b>	<b>Storia</b>	<b>Sintomi clinici/riscontri autoptici</b>	<b>Risultati analitici (ng/mL se non specificato)</b>	<b>Riferimenti bibliografici</b>
Acetilfentanil	Uomo di 37 anni portato al pronto soccorso dopo insufflazione di sospetto acetilfentanil. All'individuo è stato prescritto lorazepam	Pupille miotiche. Naloxone somministrato per via endovenosa in ambulanza	Siero: 51 Urine: 235 ng/mmol creatinina + 7-AMC, diclazepam, lorazepam, amfetamina, tramadolo, O-desmetiltramadolo, metiopropamina, ossicodone e 2-AI	[10]
	Uomo di 20 anni portato al pronto soccorso dopo ingestione di polvere. Segnalati pregabalina, buprenorfina, clonazepam e uso di amfetamine.	Pupille miotiche. Somministrato naloxone ma risposta insufficiente. Degenza ospedaliera di 2 giorni	Siero: 0.6 Urina: 0,9 ng/mmol creatinina + 7-AMC e pregabalina	[10]
	Uomo di 21 anni portato al pronto soccorso dopo aver ingerito acetilfentanil e probabili benzodiazepine	Pupille miotiche. Naloxone endovena somministrato in ambulanza. Degenza ospedaliera di 3 giorni	Siero: 32.7 Urine: 30,9 ng/mmol creatinina + 2C-P, 4-FMC, 7-AMC e 4-OH-alprazolam	[10]
	Donna di 35 anni portata al pronto soccorso. Uso sospetto di alprazolam e NPS sconosciute	Midriasi. Degenza ospedaliera di 2 giorni	Siero: 4.4 + clonazepam, oxazepam, amfetamina, 7-ammino-nitrazepam, nitrazepam e EtOH	[10]
	Uomo di 40 anni portato al pronto soccorso dopo sospetto uso di MDPV e PV prima del decesso	Apnea, tachicardia e emorragia cerebrale emorragia cerebrale con progressione edema cerebrale	Siero: 4.7 Urine: 47 ng/mmol di creatinina + 4F-PV8, alfa-PVT, destrometorfano, amfetamina e fentanil	[10]
	Uomo di 34 anni trovato morto a letto in posizione supina; vomito sotto la testa. Russava da almeno 12 ore prima del decesso. La polizia ha trovato "designer drugs" e cannuce per l'insufflazione	Gli organi pesanti (polmone Dx e Sx, fegato e cervello erano 590, 780, 1610, 1430 g). Ipertrofia cardiaca con fibrosi interstiziale e infiltrazione grassa del ventricolo R hanno contribuito indirettamente alla morte	Sangue cardiaco: 270	[100]

Sostanza	Storia	Sintomi clinici/riscontri autoptici	Risultati analitici (ng/mL se non specificato)	Riferimenti bibliografici
Acetilfentanil	Uomo di 28 anni trovato esanime sul pavimento del bagno con laccio emostatico intorno al braccio e siringa nelle vicinanze. Il deceduto aveva storia di abuso di sostanze, compresi steroidi anabolizzanti	Segni di aghi e secrezioni schiumose dalla bocca. Edema polmonare edema polmonare e lieve edema cerebrale diffuso	Sangue vena succlavia: 235 Fegato: 2400 ng/g Umor vitreo: 131 Urine: 234	[105]
	Maschio di 24 anni trovato esanime dalla madre con siringa contenente acetilfentanil e un laccio emostatico di gomma. Abuso di eroina, con 2 precedenti overdose	Polmoni edematosi e congestionati (Dx 610 g e Sx 580 g). All'autopsia sono state riscontrate 3 punture recenti nell'avambraccio sinistro e nella fossa antecubitale	Sangue periferico: 260 Sangue centrale: 250 Fegato: 1000 ng/g Umor vitreo:	[102]
	Uomo di circa 30 anni trovato esanime e dichiarato morto in ospedale. Abuso di metamfetamine. Le sostanze acetilfentanil e 4-MeO-PV8 sono stati rilevate nella polvere di colore bianco-marrone e nella siringa	Polmoni e altri organi congestionati, petecchie alle palpebre, alla capsula cordis e alla pleura e fluidità del sangue cardiaco. 2 segni recenti di ago sull'avambraccio	Sangue femorale: 153; Sangue centrale: 239; Urine: 240; Contenuto gastrico: 880. + 4-MeO-PV8: sangue femorale 389; sangue centrale 960; urina 245; contenuto gastrico 500. + 7-amminonitrazepam 7700; + fenobarbital 30. + metilfenidato, clorpromazina e risperidone.	[103]
	Uomo di 20 anni trovato morto nel letto. Il medico legale ha dichiarato il decesso sul posto. Storia di uso di droghe illecite	Nessun trauma significativo. Nessuna causa anatomica di morte	Sangue femorale: 192 Sangue cardiaco: 285 Fegato: 1100 ng/g Cervello: 620 ng/g Urina: 3420 + metossietamina e fluoxetina nel sangue cardiaco.	[66]
Acetilfentanil	Uomo di 50 anni trovato a letto esanime. Il medico legale ha dichiarato il decesso. Anamnesi di convulsioni, EtOH e prescrizione medica di idrocodone, tramadolo, gabapentin, celecoxib, ciclobenzaprina, venlafaxina, clonidina, buspirone, idrossizina e clordiazepossido)	Solo esame esterno e test tossicologico	Sangue femorale: 255 Sangue cardiaco: 210 Liquido vitreo: 140 Urina: 2720 + sangue cardiaco venlafaxina, nordiazepam e clordiazepossido; sangue femorale 2000 venlafaxina.	[66]

<b>Sostanza</b>	<b>Storia</b>	<b>Sintomi clinici/riscontri autoptici</b>	<b>Risultati analitici (ng/mL se non specificato)</b>	<b>Riferimenti bibliografici</b>
Acetilfentanil	Uomo di 64 anni morto per tossicità da acetilfentanil	N/A	Sangue: 170	[85]
Butirrilfentanil	Uomo di 30 anni accede al Pronto Soccorso dichiarando di aver consumato MT-45 e flubromazepam	Diminuzione della coscienza e tachicardia	Urine: 8 + N-etilbufedrone, flubromazepam, 3-MeO-PCP, metiopropamina, MT-45, alfa-PBP, alfa-PPP e 4F-PVP	[12]
	Uomo di 24 anni accede al Pronto Soccorso dopo assunzione di farmaci	Improvvisa perdita di coscienza, apnea, depressione respiratoria, pupille miotiche, ipotermia e sospetto arresto cardiaco. Richiesto un ricovero di 2 giorni	Siero: 0.9 Urine: 65,6 + fentanil siero 4,3; urina 993; + cannabis e pregabalin	[12]
	Uomo di 23 anni accede al Pronto Soccorso dopo aver assunto uno spray nasale a base di butirrilfentanil e AB-FUBINACA	Agitazione, comportamento strano, sensazioni sgradevoli. Improvvisa incoscienza improvvisa, depressione respiratorio, mioclono, pupille pupille dilatate, ipertermia, ipertensione e tachicardia	Siero: 0.6 Urina: 2,0 + fentanil siero 10,2; urina 118; + N-etilbufedrone, 3-MeO-PCP, 4-MeO-PCP, alfa-PBP e pregabalin	[12]
Butirrilfentanil	Uomo di 44 anni incosciente sul pavimento del bagno. Siringa e materiale per il consumo di sostanze stupefacenti sul posto. Il deceduto aveva un pregresso di abuso di eroina	Segni di aghi nelle fosse antecubitale, avambraccio, polso sinistro e caviglie. caviglie. Puntura recente sulla fossa antecubitale sinistra. Polmoni edematosi e congestionati (Dx 890 g e Sx 815 g)	Sangue periferico: 58 Sangue centrale: 97 Fegato: 320 ng/g Umor vitreo: 40 Urina: 670 + sangue periferico acetilfentanil 38; sangue centrale 32; fegato 110 ng/g; vitreo 38; urina 540 e BZE	[63]
	Donna di 53 anni trovata priva di sensi nel bagno. Nessuna parafernalia per l'utilizzo di sostanze stupefacenti. Anamnesi di tabagismo, abuso di farmaci da prescrizione e ospedalizzazione per disturbi psichiatrici	Polmoni edematosi e congestionati (Sx 450 g e Dx 510 g); lieve aterosclerosi e ipertrofia miocardica ventricolare concentrica Sx.	Sangue periferico: 99 Sangue centrale: 220 Contenuto Gastrico: 590 Cervello: 93 ng/g Fegato: 41 ng/g Umor vitreo: 32 Bile: 260 Urina: 64	[89]

Sostanza	Storia	Sintomi clinici/autopsia reperti	Risultati sostanza (ng/mL se non specificato)	Riferimenti
Butirrilfentanil	Donna di 45 anni trovata esanime nel letto. Anamnesi di ansia, disturbo bipolare, precedenti tentativi di suicidio, abuso di farmaci e abuso di alcol. Trovati nella scena due crimine solo farmaci prescritti con numero di pillole previsto	Polmoni edematosi e congestionati (L 570 g e R 680 g); lieve ipertrofia ventricolare L e lieve ipertrofia miocardica e lieve nefrosclerosi	Sangue periferico: 3,7 Sangue centrale: 9,2 Contenuto Gastrico: 4000 Cervello: 63 ng/g Fegato: 39 ng/g Umor vitreo: 9,8 Bile: 49 Urina: 2 + acetilfentanil periferico sangue 21; sangue centrale 95; gastrico 28.000; cervello 200 ng/g; fegato 160 ng/g; vitreo 68; bile 330; urina 8 + sangue periferico alprazolam 40 e 0,11% EtOH.	[89]
Butirrilfentanil	Uomo di 23 anni trovato privo di sensi nel bagno. Sulla scena rinvenuto un vassoio con polvere bianca e un flacone	Edema cerebrale e vescica moderatamente piena. Residui di polvere bianca nel naso. Abrasioni, ecchimosi ed emorragie fresche	Sangue periferico: 66 Sangue centrale: 39 Muscolo: 110 ng/g Rene: 160 ng/g Fegato: 57 ng/g Aumento del 120% delle concentrazioni nel sangue femorale, prelevato a 19 ore di distanza, e del 55% nel sangue cardiaco	[50]
Furanilfentanil	Uomo di 22 anni accede al Pronto Soccorso dopo aver usato uno spray nasale a base di furanilfentanil	Ha ricevuto naloxone SC e IV	Siero: 148 Urine: 85,2 ng/mmol creatinina + 5-EAPB, MDPHP	[10]
	Uomo di 22 anni accede al Pronto Soccorso dopo aver usato uno spray nasale contenente farmaco sconosciuto e clonazepam da prescrizione	Apnea e cianosi. Naloxone per via endovenosa. Necessario un ricovero di 2 giorni di permanenza in ospedale	Siero: 4.4 Urine: 9,2 ng/mmol creatinina + parametossibutirrilfentanil: siero 11; urina 51,3 ng/mmol creatinina +MDPHP, pregabalin e clonazepam	[10]

<b>Sostanza</b>	<b>Storia</b>	<b>Sintomi clinici/riscontri autoptici</b>	<b>Risultati analitici (ng/mL se non specificato)</b>	<b>Riferimenti bibliografici</b>
Furanilfentanil	Uomo di 26 anni con precedenti di abuso di droga viene trovato deceduto in casa. Sulla scena ritrovate parafernalia per iniezione	Edema cerebrale e polmonare	Sangue: 1,05 + THC, mirtazapina e metabolita, pregabalin 6,0 mcg/mL, buprenorfina e metabolita	[90]
	Uomo di 36 anni con precedenti di abuso di droghe trovato deceduto in casa. Rinvenuta confezione del farmaco Lyrica (pregabalin) con quattro compresse mancanti	Edema polmonare e schiuma nelle vie aeree. nelle vie respiratorie. L'autopsia esame post-mortem ha escluso gravi lesioni traumatiche	Sangue: 2,89 + pregabalin 14 mcg/mL	[90]
Furanilfentanil	Uomo di 37 anni trovato privo di sensi in un fosso; ritrovata una striscia vuota di sonniferi a base di zopiclone	Congestione viscerale e infiammazione cronica del fegato	Sangue: 0,95 + carbamazepina, venlafaxina, prometazina, alimemazina, metilfenidato, acetaminofene, pregabalin 34 mcg/mL, amfetamina, 7-AMC	[90]
	Uomo di 26 anni con precedenti di abuso di droghe trovato deceduto in casa. Sulla scena del crimine rinvenute parafernalia per iniezione	Edema polmonare e cerebrale	Sangue: 0,43	[90]
	Uomo di 26 anni con precedenti di abuso di droghe trovato deceduto in casa. Trovati tre spray nasali sospettati di contenere fentanil	Edema cerebrale e polmonare e schiuma nelle vie respiratorie	Sangue: 0,78 + carbamazepina, pregabalin, gabapentin, norbuprenorfina, fentanil, alimemazina, alprazolam, diazepam, metilfenidato	[90]
	Uomo di 27 anni con una storia di tentativi di suicidio trovato deceduto a casa	Fegato ingrossato con steatosi e cirrosi incipiente	Sangue: 1,15	[90]
	Uomo di 24 anni, da poco dimesso (3 giorni prima) da un centro di trattamento delle dipendenze, trovato deceduto in casa. Sulla scena rinvenuti oggetti per l'utilizzo di sostanze stupefacenti	Bronchite cronica e segni di aspirazione. I polmoni erano congestionati ed edematosi	Sangue: 0,40 + fentanil 1,27	[90]
	Uomo di 24 anni con una storia di abuso di sostanze trovato inerte con una siringa nel braccio	N/A	Sangue: Positivo + U-47700 59, 4-ANPP e chinina	[67]

<b>Sostanza</b>	<b>Storia</b>	<b>Sintomi clinici/riscontri autoptici</b>	<b>Risultati analitici (ng/mL se non specificato)</b>	<b>Riferimenti bibliografici</b>
Furanilfentanil	Uomo di 36 anni trovato senza reazione in bagno con il tappo di una siringa in bocca	N/A	Sangue: 26 + U-47700 135, EtOH, 4-ANPP e chinina	[67]
	Uomo di 33 anni trovato deceduto; sospetta overdose	N/A	Sangue: 56 + U-47700 167, morfina, 48, 4-ANPP, 6-MAM e chinino	[67]
	Uomo di 29 anni trovato senza reazione; sospetta overdose di eroina	N/A	Sangue: 76 + U-47700 490, 4-ANPP, chinina	[67]
	Uomo di 40 anni con una storia di abuso di eroina/oppioidi trovato deceduto	N/A	Sangue: 2,5 + U-47700 105, 4-ANPP, chinina	[67]
	Uomo di 30 anni con storia di abuso di sostanze stupefacenti, trovato a casa incosciente	Edema polmonare, gastrite ed epatite cronica	Sangue: 6,1 + delta 9-THC 1, tramadolo 75, O-desmetil tramadolo 40, butirrilfentanil 0,33	[67]
	Uomo di 32 anni con storia di abuso di sostanze stupefacenti trovato a casa incosciente	N/A	Sangue: 12,9 + THC-COOH 13, difenidramina 140, acetilfentanil 0,65, naloxone	[67]
	Uomo di 26 anni con storia di abuso di sostanze stupefacenti, trovato a casa incosciente	Edema polmonare e cerebrale.	Sangue: 6,2 + alprazolam 25, idrocodone 120, idromorfone 1,8, diidrocodeina 21, venlafaxina 83, O-desmetilvenlafaxina 400, THC-COOH 7,2, difenidramina 90	[67]
para-Metossibutirrilfentanil	Donna di 29 anni accede al Pronto Soccorso dopo un sospetto uso di NPS sconosciute. Le viene prescritto tramadolo	Pupille miotiche. Necessario un ricovero di 2 giorni in ospedale	Siero: 1.3 Urine: 5,1 ng/mmol creatinina + butirrilfentanil, parafluorobutirrilfentanil, cannabis, nordiazepam tramadolo, O-desmetiltramadolo	[10]
	Uomo di 28 anni accede al Pronto Soccorso dopo sospetta assunzione di oppioidi e benzodiazepine	Pupille miotiche. Naloxone per via endovenosa. Necessaria degenza ospedaliera di 2 giorni	Siero: 3.1 + para-fluorobutirrilfentanil, alprazolam, 4-OH-alprazolam, 7-AMC, BZE, clonazepam, cocaina, O-desmetiltramadolo, diazepam, oxazepam	[10]





# UNODC

United Nations Office on Drugs and Crime

Vienna International Centre, P.O. Box 500, 1400 Vienna, Austria  
Tel.: (+43-1) 26060-0, Fax: (+43-1) 26060-5866, [www.unodc.org](http://www.unodc.org)