

# Kurzbericht Validierung

Identität von THC und CBD in

## Somai Cannabisextrakt Hybrid 2,5:25

Mittels

## CannaFix-ID<sup>®</sup> THC/CBD Schnelltest-Set

### Inhaltsverzeichnis

|     |                                            |   |
|-----|--------------------------------------------|---|
| 1   | Vorbemerkung .....                         | 2 |
| 2   | Akzeptanzkriterien und Prüfparameter ..... | 2 |
| 3   | Methoden .....                             | 3 |
| 4   | Eignungsprüfung Identität.....             | 3 |
| 5   | Spezifität .....                           | 4 |
| 5.1 | Negativkontrollen .....                    | 4 |
| 5.2 | Dünnschichtchromatographie nach DAB.....   | 4 |
| 6   | Robustheit .....                           | 5 |
| 7   | Zusammenfassung und Bewertung .....        | 5 |

## 1 Vorbemerkung

Dieser Validierungsbericht beschreibt die Validierung einer Identitätsmethode zur Identifizierung von  $\Delta^9$ -THC und Cannabidiol (CBD) in Somai Cannabisextrakt Hybrid 2,5:25 gemäß ICH Q2(R1). Ziel der Validierung ist der Nachweis über die Eignung des CannaFix-ID® THC/CBD-Schnelltests zur Identifizierung von  $\Delta^9$ -THC und CBD im Somai Cannabisextrakt Hybrid 2,5:25. Der verwendete Cannabis Extrakt ist in MCT-Öl eingestellt. Beim Testsystem handelt es sich um einen 2-stufigen Farbttest, welcher die strukturellen Unterschiede von  $\Delta^9$ -THC und CBD ausnutzt.

## 2 Akzeptanzkriterien und Prüfparameter

Tabelle 1: Zusammenfassung der Akzeptanzkriterien und Prüfparameter

| Parameter                                                     | Beschreibung und Erwartungswerte                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | Akzeptanzkriterien                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|---------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Eignungsprüfung der Methode: Identität, $\Delta^9$ -THC / CBD | <p><u>Probe: Somai Cannabisextrakt Hybrid 2,5:25</u><br/>           Stufe 1: Violette Farbe → Identität CBD: Positiv<br/>           Stufe 2: Bei deutlichem Unterschied zwischen der Farbe der Probe und der Farbe der CBD-Referenz → Identität THC: Positiv</p> <p><u>THC/CBD-Spike: (25 mg/ml THC, 25 mg/ml CBD in 1ml MCT-Öl)</u><br/>           Stufe 1: Violette Farbe → Identität CBD: Positiv<br/>           Stufe 2: Bei deutlichem Unterschied zwischen der Farbe der Probe und der Farbe der CBD-Referenz → Identität THC: Positiv</p> <p><u>CBD-Spike: CBD 25 mg/ml (in MCT)</u><br/>           Stufe 1: Violette Farbe → Identität CBD: Positiv<br/>           Stufe 2: Farbe hat der Farbe der CBD-Referenz zu entsprechen.<br/>           → Identität THC: Negativ</p> <p><u>THC-Spike: <math>\Delta^9</math>-THC 25 mg/ml (in MCT)</u><br/>           Stufe 1: Keine Farbe → Identität CBD: Negativ<br/>           Stufe 2: Bei deutlichem Unterschied zwischen der Farbe der Probe und der Farbe der CBD-Referenz → Identität THC: Positiv</p> <p><u>CBD-Referenz: CBD 25 mg/ml (in 2-Propanol)</u><br/>           Stufe 1: Violette Farbe → Identität CBD: Positiv<br/>           Stufe 2: Farbe dient als Referenz zur Beurteilung der Probe, der Spike-Proben und der THC-Referenz.</p> <p><u>THC-Vergleichslösung: <math>\Delta^9</math>-THC 25 mg/ml (in 2-Propanol)</u><br/>           Stufe 1: Keine Farbe → Identität CBD: Negativ<br/>           Stufe 2: Bei deutlichem Unterschied zwischen der Farbe der Probe und der Farbe der CBD-Referenz → Identität THC: Positiv</p> <p>Probe Somai Hybrid 2,5:25 + 1 mg/ml THC (<math>\Sigma</math> 3,5 mg/ml THC)<br/>           Probe Somai Hybrid 2,5:25 + 2 mg/ml THC (<math>\Sigma</math> 4,5 mg/ml THC)<br/>           Probe Somai Hybrid 2,5:25 + 3 mg/ml THC (<math>\Sigma</math> 5,5 mg/ml THC)<br/>           Probe Somai Hybrid 2,5:25 + 4 mg/ml THC (<math>\Sigma</math> 6,5 mg/ml THC)<br/>           Probe Somai Hybrid 2,5:25 + 5 mg/ml THC (<math>\Sigma</math> 7,5 mg/ml THC)</p> | <p><u>Probe: Somai Cannabisextrakt Hybrid 2,5:25 (n = 3)</u><br/>           Identität THC: Positiv<br/>           Identität CBD: Positiv</p> <p><u>THC/CBD-Spike (n = 1)</u><br/>           Identität THC: Positiv<br/>           Identität CBD: Positiv</p> <p><u>CBD-Spike (n = 1)</u><br/>           Identität THC: Negativ<br/>           Identität CBD: Positiv</p> <p><u>THC-Spike (n = 1)</u><br/>           Identität THC: Positiv<br/>           Identität CBD: Negativ</p> <p><u>CBD-Referenz (n = 1)</u><br/>           Identität THC: Negativ<br/>           Identität CBD: Positiv</p> <p><u>THC-Vergleichslösung (n = 1)</u><br/>           Identität THC: Positiv<br/>           Identität CBD: Negativ</p> <p><u>Spike-Proben (+THC) je n = 1</u><br/>           Identität CBD: Positiv<br/>           Identität THC: Negativ/Positiv</p> <p>1) Evaluierung der Nachweisgrenze von THC</p> |
| Spezifität der Methode                                        | <p><u>Probe: Somai Cannabisextrakt Hybrid 2,5:25</u><br/>           Dünnschichtchromatographie gemäß DAB-Monographie „Eingestellter Cannabisextrakt“</p> <p><u>Reagenzien-Blank</u><br/>           Verdünner wird mit Farbreagenz gemischt und entwickelt.</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | <p><u>Probe: Somai Cannabisextrakt Hybrid 2,5:25 (je n = 1)</u><br/>           Identität identisch zu CannaFix-ID THC/CBD</p> <p><u>Reagenzien-Blank (je n = 1)</u><br/>           Identität CBD: Negativ<br/>           Identität THC: Negativ</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |

| Parameter  | Beschreibung und Erwartungswerte                                                                                                                                        | Akzeptanzkriterien                                                                                               |
|------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|            | <u>MCT-Blank</u><br>MCT-Öl ohne CBD/THC) wird mit Verdünner (Stufe 1) und Farbreagenz (Stufe 2) geprüft.                                                                | <u>MCT-Blank</u><br>Identität CBD: Negativ<br>Identität THC: Negativ                                             |
| Robustheit | <u>Probe: Somai Cannabisextrakt Hybrid 2,5:25</u><br>Die Probenmenge ist zu variieren (Normal: 100 µl).<br>Kleinere Probenmenge (75 µl)<br>Größere Probenmenge (125 µl) | <u>Probe: Somai Cannabisextrakt Hybrid 2,5:25 (je n = 1)</u><br>Identität CBD: Positiv<br>Identität THC: Positiv |

### 3 Methoden

Die Prüfungen werden bei Raumtemperatur (15 - 25°C) durchgeführt, d.h. Proben und Reagenzien haben Raumtemperatur. Die Prüfungen sind gemäß der dem Schnelltest-Set beiliegenden Anleitung vorgenommen. Die Prüfung der Dünnschichtchromatographie erfolgt nach Vorgaben der DAB-Monographie „Eingestellter Cannabisextrakt“.

### 4 Eignungsprüfung Identität

Tabelle 2: Untersuchungslösungen für die Eignungsprüfung der Methode

| Probe                       | Somai Cannabisextrakt Hybrid 2,5:25  | CBD/THC-Spike                        | THC-Spike                            | CBD-Spike                            | THC Vergleichslösung                 | CBD Referenz                         |
|-----------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| Anzahl (n)                  | 3                                    | 1                                    | 1                                    | 1                                    | 1                                    | 1                                    |
| Δ <sup>9</sup> -THC -Gehalt | 2,5 mg/ml                            | 25 mg/ml                             | 25 mg/ml                             | 0 mg/ml                              | 25 mg/ml                             | 0 mg/ml                              |
| CBD-Gehalt                  | 25 mg/ml                             | 25 mg/ml                             | 0 mg/ml                              | 25 mg/ml                             | 0 mg/ml                              | 25 mg/ml                             |
| Probenvolumen               | 100 µl                               |
| Verdünner                   | 2 ml                                 |
| Akzeptanzkriterium          | THC: positiv<br>CBD: positiv         | THC: positiv<br>CBD: positiv         | THC: positiv<br>CBD: negativ         | THC: negativ<br>CBD: positiv         | THC: positiv<br>CBD: negativ         | THC: negativ<br>CBD: positiv         |
| Ergebnis                    | <b>THC: positiv<br/>CBD: positiv</b> | <b>THC: positiv<br/>CBD: positiv</b> | <b>THC: positiv<br/>CBD: negativ</b> | <b>THC: negativ<br/>CBD: positiv</b> | <b>THC: positiv<br/>CBD: negativ</b> | <b>THC: negativ<br/>CBD: positiv</b> |

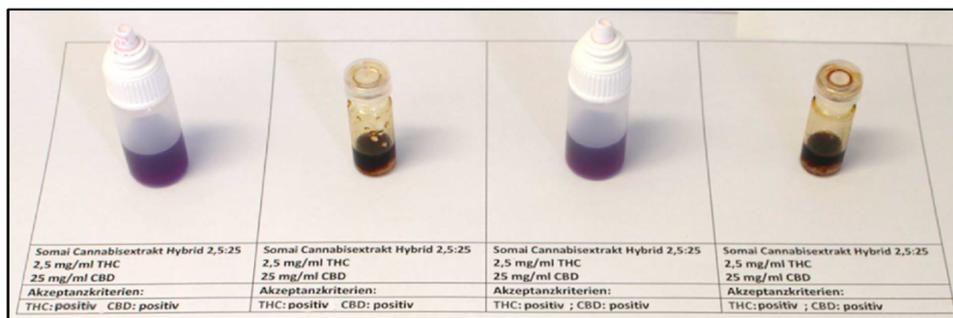


Abbildung 1: Fotos nach Durchführung des CannaFix-ID THC/CBD Schnelltests beim Somai Cannabisextrakt Hybrid 2,5:25

Der Somai Cannabisextrakt Hybrid 2,5:25 wies in der ersten Stufe des Farbtests, nach der Reaktion mit dem Verdünner, eine deutliche violette Färbung auf. In der zweiten Stufe des Farbtests, nach der Reaktion des Verdünner-Extraktes mit der Farbreagenz und dem Entwickler, ergab sich ein brauner Farbumschlag. Die Farbumschläge aller weiteren untersuchten Substanzen entsprachen ebenfalls der Farbskala. Somit erfüllte der Test für den Somai Cannabisextrakt Hybrid 2,5:25, den THC/CBD-Spike, den THC-Spike, den CBD-Spike, die THC-Referenz und die CBD-Referenz die Akzeptanzkriterien. Die Eignungsprüfung der Identität gilt als bestanden.

## 5 Spezifität

### 5.1 Negativkontrollen

Tabelle 3: Konzentrationen für die Bestimmung der Spezifität

| Probe                  | MCT-Blank (Trägeröl)                 | Reagenzien-Blank                     |
|------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| Anzahl (n)             | 1                                    | 1                                    |
| $\Delta^9$ -THC-Gehalt | 0 mg/ml                              | 0 mg/ml                              |
| CBD-Gehalt             | 0 mg/ml                              | 0 mg/ml                              |
| Probenvolumen          | 100 $\mu$ l                          | -                                    |
| Verdünner              | 2 ml                                 | 2 ml                                 |
| Akzeptanzkriterium     | THC: negativ<br>CBD: negativ         | THC: negativ<br>CBD: negativ         |
| Ergebnis               | <b>THC: negativ<br/>CBD: negativ</b> | <b>THC: negativ<br/>CBD: negativ</b> |

### 5.2 Dünnschichtchromatographie nach DAB

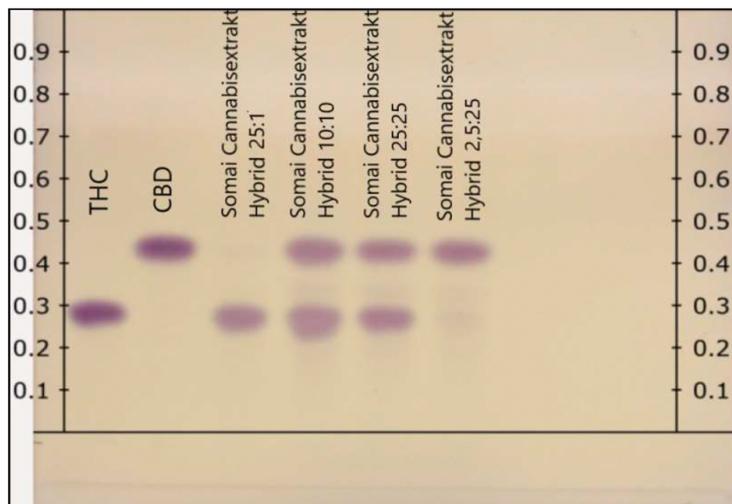


Abbildung 2: Auswertung der Dünnschichtchromatographie der Somai Cannabisextrakte, sowie eines THC-Standards und eines CBD-Standards

Die Tests am Matrix-Blank und Reagenzien-Blank ergaben den erwarteten Farbumschlag. Die Dünnschichtchromatographie nach DAB bestätigte ebenfalls den positiven Farbumschlag. Somit erfüllte der Test die Akzeptanzkriterien und die Spezifität des Tests ist gewährleistet.

## 6 Robustheit

Tabelle 4: Probenmengen für die Bestimmung der Robustheit

| Probe                   | Somai Cannabisextrakt Hybrid 2,5:25  | Somai Cannabisextrakt Hybrid 2,5:25                                                       | Somai Cannabisextrakt Hybrid 2,5:25  |
|-------------------------|--------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|
| Anzahl (n)              | 1                                    |                                                                                           | 1                                    |
| $\Delta^9$ -THC -Gehalt | 2,5 mg/ml                            | Die Ergebnisse der Eignungsprüfung gelten hier ebenfalls.<br><b>100 <math>\mu</math>l</b> | 2,5 mg/ml                            |
| CBD-Gehalt              | 25 mg/ml                             |                                                                                           | 25 mg/ml                             |
| Probenvolumen           | <b>75 <math>\mu</math>l</b>          |                                                                                           | <b>125 <math>\mu</math>l</b>         |
| Verdünner               | 2 ml                                 |                                                                                           | 2 ml                                 |
| Anzahl                  | n = 1                                |                                                                                           | n = 1                                |
| Akzeptanzkriterium      | THC: positiv<br>CBD: positiv         | THC: positiv<br>CBD: positiv                                                              | THC: positiv<br>CBD: positiv         |
| Ergebnis                | <b>THC: positiv<br/>CBD: positiv</b> | <b>THC: positiv<br/>CBD: positiv</b>                                                      | <b>THC: positiv<br/>CBD: positiv</b> |

## 7 Zusammenfassung und Bewertung

Der CannaFix-ID THC/CBD Schnelltest wurde für die Bestimmung von THC und CBD im Somai Cannabisextrakt Hybrid 2,5:25 in vollem Umfang validiert. Bei den Validierungs-Parametern Eignungsprüfung der Identität, Spezifität und Robustheit wurden alle Akzeptanzkriterien erfüllt. Daher eignet sich der CannaFix-ID THC/CBD Schnelltest zur alternativen Identitätsfeststellung des Somai Cannabisextrakt Hybrid 2,5:25.