

Kurzbericht Validierung

(VR-22-009-V1)

Identität von THC und CBD in

Vayamed Cannabidiol

Mittels

CannaFix-ID[®] THC/CBD Schnelltest-Set

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|---|--------------------------------------------|---|
| 1 | Zusammenfassung | 2 |
| 2 | Akzeptanzkriterien und Prüfparameter | 2 |
| 3 | Methode | 4 |
| 4 | Ergebnisse | 5 |
| 5 | Bewertung..... | 5 |

1 Zusammenfassung

Dieser Validierungsbericht beschreibt die Validierung einer Identitätsmethode zur Identifizierung von CBD in Vayamed Cannabidiol gemäß ICH Q2(R1). Die Analysenmethode wird im Labor von Wessling Münster validiert. Ziel der Validierung ist der Nachweis über die Eignung des CannaFIX-ID® THC/CBD-Schnelltests zur Identifizierung von CBD in Vayamed Cannabidiol und die Evaluierung der Nachweisgrenze von Δ^9 -THC. Beim Testsystem handelt es sich um einen 2-stufigen Farbttest, welcher die strukturellen Unterschiede von Δ^9 -THC und CBD ausnutzt.

2 Akzeptanzkriterien und Prüfparameter

Tabelle 1: Übersicht: Studienumfang, Prüfparameter und Akzeptanzkriterien

| Parameter | Beschreibung und Erwartungswerte | Akzeptanzkriterien |
|------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Eignungsprüfung der Methode: Identität, Δ^9 -THC / CBD | <p><u>Probe: Cannabidiol</u> Stufe 1: Violette Farbe → Identität CBD: Positiv Stufe 2: Identität THC: negativ</p> <p><u>CBD-Referenz: CBD 50 mg/ml (in 2-Propanol)</u> Stufe 1: Violette Farbe → Identität CBD: Positiv Stufe 2: Farbe dient als Referenz zur Beurteilung der Probe, der Spike-Proben und der THC-Referenz.</p> <p><u>THC-Referenz: 100 µl THC 50 mg/ml (in 2-Propanol)</u> Stufe 1: Keine Farbe → Identität CBD: Negativ Stufe 2: Bei deutlichem Unterschied zwischen der Farbe der Probe und der Farbe der CBD-Referenz → Identität THC: Positiv</p> <p><u>CBD-Nachweisgrenze: 10 µl CBD 50 mg/ml (in 2-Propanol)</u> Stufe 1: Violette Farbe → Identität CBD: Positiv Stufe 2: Identität THC: negativ</p> <p><u>THC-Spike-Proben</u> CBD-Referenz (100 µl) + 100 µl 2-Propanol CBD -Referenz (100 µl) + 1 mg/ml THC (100 µl) CBD -Referenz (100 µl) + 2 mg/ml THC (100 µl) CBD -Referenz (100 µl) + 3 mg/ml THC (100 µl) CBD -Referenz (100 µl) + 4 mg/ml THC (100 µl) CBD -Referenz (100 µl) + 5 mg/ml THC (100 µl)</p> <p>Stufe 1: violette Farbe → Identität CBD: Positiv</p> <p>Stufe 2: Bei deutlichem Unterschied zwischen der Farbe der Spike-Probe und der Farbe der CBD-Referenz → Identität THC: Positiv ¹⁾</p> <p>1) Es ist die Konzentration an THC zu evaluieren, ab welcher die Identität von THC nachweisbar ist.</p> | <p><u>Probe: Cannabidiol (n = 3)</u> Identität CBD: Positiv Identität THC: Negativ</p> <p><u>CBD-Referenz (n = 1)</u> Identität CBD: Positiv</p> <p><u>THC-Referenz (n = 1)</u> Identität CBD: Negativ Identität THC: Positiv</p> <p><u>CBD-Nachweisgrenze (n = 1)</u> Identität CBD: Positiv Identität THC: Negativ</p> <p><u>THC-Spike-Proben je n = 1</u> Identität CBD: Positiv Identität THC: Negativ/Positiv ¹⁾</p> <p>1) Evaluierung der Nachweisgrenze von THC.</p> |
| Fortsetzung der Tabelle 1... | | |

| Parameter | Beschreibung und Erwartungswerte | Akzeptanzkriterien |
|------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|
| Spezifität der Methode | <u>Reagenzien-Blank</u> Verdünner wird mit Farbreagenz gemischt und entwickelt. | <u>Reagenzien-Blank (je n = 1)</u> Identität CBD: Negativ Identität THC: Negativ |
| Robustheit | <u>Probe: Cannabidiol</u> Die Probenmenge ist zu variieren (Normal: 5 mg). Kleinere Probenmenge (1 mg bis 3 mg) Größere Probenmenge (7 mg bis 10 mg) | <u>Probe: Cannabidiol</u> Identität CBD: Positiv Identität THC: Negativ |
| Ende der Tabelle 1. | | |

3 Methode

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.

Tabelle 2: Untersuchungslösungen für die Eignungsprüfung der Methode

| Probe | Vayamed Cannabidiol | THC-Spike-Proben | CBD Referenz | THC-Referenz | CBD-Nachweisgrenze |
|---------------------|--------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|---------------------|------------------|--------------------|
| CBD-Gehalt | ≥ 98% | 50 mg/ml | 5 mg/ml | 0 mg/ml | 50 mg/ml |
| Δ ⁹ -THC | 0% | 0 mg/ml 1 mg/ml 2 mg/ml 3 mg/ml 4 mg/ml 5 mg/ml | 0 mg/ml | 50 mg/ml | 0 mg/ml |
| Probenmenge | 5 mg ± 1 mg: Probe 1: 4,17 mg Probe 2: 5,15 mg Probe 3: 5,13 mg | 100 µl CBD-Stock je 100 µl THC-Ref-0 bis THC-Ref-5 | 100 µl CBD-Stock | 100 µl THC-Stock | 10 µl CBD-Stock |
| Verdünner | 2 ml | 2 ml | 2 ml | 2 ml | 2 ml |
| Anzahl | n = 3 | je n = 1 | n = 1 | n = 1 | n = 1 |

Tabelle 3: Untersuchungslösungen für Prüfung der Selektivität

| Probe | Reagenzien-Blank | 2-Propanol-Blank |
|-----------------------------|------------------|------------------|
| Δ ⁹ -THC -Gehalt | 0 mg/ml | 0 mg/ml |
| CBD-Gehalt | 0 mg/ml | 0 mg/ml |
| Probenvolumen | - | 100 µl |
| Verdünner | 2 ml | 2 ml |
| Anzahl | n = 1 | n = 1 |

Es ist denkbar, dass in Praxis die Probenmenge etwas variiert. Die nachfolgenden Experimente wurden durchgeführt, um sicherzustellen, dass die Methode für diese Variation robust genug ist.

Tabelle 4: Methoden-Robustheit (Probenvolumen)

| Probe | Vayamed Cannabidiol | Vayamed Cannabidiol |
|-----------------------------|------------------------------|-------------------------------|
| Δ ⁹ -THC -Gehalt | 0% | 0% |
| CBD-Gehalt | ≥ 98% | ≥ 98% |
| Probenmenge ¹⁾ | 1 bis 3 mg Probe: 1,18 mg | 7 bis 10 mg Probe: 9,21 mg |
| Verdünner | 2 ml | 2 ml |
| Anzahl | n = 1 | n = 1 |

¹⁾ Mengen unter 10 mg liegen unter der Mindesteinwaage der zur Verfügung stehenden Waagen. Für Identitätstests ist die Richtigkeit der Waage für Einwaagen zwischen 1 und 10 mg ausreichend, da nur eine qualitative Aussage (Identitätstest) benötigt wird.

4 Ergebnisse

Die Validierungsergebnisse werden in der folgenden Tabelle dargestellt.

Tabelle 5: Ergebnisse der Validierungsexperimente

| | | | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|-------------------------------------|------------------------|
| Reagenzien-Blank | | | |
| Ergebnis: | CBD: negativ | THC: negativ | Validierung: bestanden |
| 2-Propanol-Blank | | | |
| Ergebnis: | CBD: negativ | THC: negativ | Validierung: bestanden |
| CBD-Referenz (100 µl 50 mg/ml CBD) | | | |
| Ergebnis: | CBD: positiv | THC: negativ | Validierung: bestanden |
| CBD-Nachweisgrenze (10 µl 50 mg/ml CBD), entspricht 0,5 mg CBD | | | |
| Ergebnis: | CBD: positiv | THC: negativ | Validierung: bestanden |
| THC-Referenz (100 µl 50 mg/ml Δ^9 -THC) | | | |
| Ergebnis: | CBD: negativ | THC: positiv | Validierung: bestanden |
| THC-Spike | | | |
| Ergebnis: | CBD: positiv | | Validierung: bestanden |
| THC-Spike | | | |
| Ergebnis: | | THC: positiv ab THC-Spike 2mg/ml | Validierung: bestanden |
| THC-Referenz ist intensiv violett gefärbt. CBD-Referenz ist orange-rot gefärbt. Bereits kleine THC-Anteile in CBD führen zu einer braunen Mischfarbe. | | | |
| Probe: Vayamed Cannabidiol | | | |
|  | | | |
| Ergebnis: | CBD: positiv | | Validierung: bestanden |
| Probe: Vayamed Cannabidiol | | | |
|  | | | |
| Ergebnis: | | THC: negativ | Validierung: bestanden |
| Robustness: Vayamed Cannabidiol | | | |
| Ergebnis: | CBD: positiv | | Validierung: bestanden |
| Robustness: Vayamed Cannabidiol | | | |
| Ergebnis: | | THC:negativ | Validierung: bestanden |
| Ende der Tabelle 5. | | | |

5 Bewertung

Der geprüfte CannaFIX-ID® THC/CBD Test ist zur Identifizierung von CBD in Vayamed Cannabidiol vollumfänglich geeignet.

Sowohl die Probe der CBD-Nachweisgrenze (10 µl 50 mg/ml CBD) als auch die Robustness-Probe mit ca. 1 mg CBD sind in Stufe 2 (Ampulle) deutlich intensiver orange-rot gefärbt als die Blank-Proben.

Die Nachweisgrenze für Δ^9 -THC wurde bei der 2 mg/ml THC-Spike Probe erreicht. Somit ist Δ^9 -THC in CBD in einem Mengen(Massen)verhältnis von 1 Teil THC zu 25 Teilen CBD nachweisbar.

Das Testverfahren hat sich in der Validierung als einfach in der Handhabung, schnell und sicher in der Auswertung gezeigt.

Es wurden alle Akzeptanzkriterien des Validierungsplanes eingehalten. Das Verfahren ist für Vayamed Cannbidiol validiert.