

Kurzbericht Validierung

Identität von THC und CBD in

Somai Cannabisextrakt Hybrid 25:1

Mittels

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

Inhaltsverzeichnis

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

1 Vorbemerkung

Dieser Validierungsbericht beschreibt die Validierung einer Identitätsmethode zur Identifizierung von Δ^9 -THC und Cannabidiol (CBD) in Somai Cannabisextrakt Hybrid 25:1 gemäß ICH Q2(R1). Ziel der Validierung ist der Nachweis über die Eignung des CannaFix-ID® THC/CBD-Schnelltest-Sets zur Identifizierung von Δ^9 -THC und CBD im Somai Cannabisextrakt Hybrid 25:1. Der verwendete Cannabis Extrakt ist in MCT-Öl eingestellt. Beim Testsystem handelt es sich um einen 2-stufigen Farbstest, welcher die strukturellen Unterschiede von Δ^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, Δ^9 -THC / CBD	<p><u>Probe: Somai Cannabisextrakt Hybrid 25:1</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>THC/CBD-Spike: (25 mg/ml THC, 25 mg/ml CBD in 1ml MCT-Öl)</u> Stufe 1: Violette Farbe → Identität CBD: Positiv Stufe 2: Bei deutlichem Unterschied zwischen der Farbe der Probe und der Farbe der CBD-Referenz → Identität THC: Positiv</p> <p><u>THC-Spike: Δ^9-THC 25 mg/ml (in MCT)</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-Spike: CBD 25 mg/ml (in MCT)</u> Stufe 1: Violette Farbe → Identität CBD: Positiv Stufe 2: Farbe hat der Farbe der CBD-Referenz zu entsprechen. → Identität THC: Negativ</p> <p><u>CBD-Referenz: CBD 25 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: Δ^9-THC 25 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>Probe Somai Hybrid 25:1 + 0 mg/ml CBD ($\sum \leq 1$ mg/ml CBD) Probe Somai Hybrid 25:1 + 1 mg/ml CBD ($\sum \leq 2$ mg/ml CBD) Probe Somai Hybrid 25:1 + 2 mg/ml CBD ($\sum \leq 3$ mg/ml CBD) Probe Somai Hybrid 25:1 + 3 mg/ml CBD ($\sum \leq 4$ mg/ml CBD) Probe Somai Hybrid 25:1 + 4 mg/ml CBD ($\sum \leq 5$ mg/ml CBD)</p>	<p><u>Probe: Somai Cannabisextrakt Hybrid 25:1 (n = 3)</u> Identität THC: Positiv Identität CBD: Negativ</p> <p><u>THC/CBD-Spike (n = 1)</u> Identität THC: Positiv Identität CBD: Positiv</p> <p><u>THC-Spike (n = 1)</u> Identität THC: Positiv Identität CBD: Negativ</p> <p><u>CBD-Spike (n = 1)</u> Identität THC: Negativ Identität CBD: Positiv</p> <p><u>CBD-Referenz (n = 1)</u> Identität THC: Negativ Identität CBD: Positiv</p> <p><u>THC-Vergleichslösung (n = 1)</u> Identität THC: Positiv Identität CBD: Negativ</p> <p><u>Spike-Proben (+CBD) je n=1</u> Identität CBD: Negativ/Positiv¹⁾ Identität THC: Positiv</p> <p>1) Evaluierung der Nachweisgrenze von CBD</p>
Spezifität der Methode	<p><u>Probe: Somai Cannabisextrakt Hybrid 25:1</u> Dünnschichtchromatographie gemäß DAB-Monographie „Eingestellter Cannabisextrakt“</p>	<p><u>Probe: Somai Cannabisextrakt Hybrid 25:1 (je n = 1)</u> Identität identisch zu Quick-ID THC/CBD Schnelltest-Set</p>

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

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: Konzentrationen für die Bestimmung der Identität

Probe	Somai Cannabisextrakt Hybrid 25:1	CBD/THC-Spike-	THC-Spike	CBD-Spike	THC Vergleichs-lösung	CBD Referenz
Anzahl (n)	3	1	1	1	1	1
Δ ⁹ -THC -Gehalt	25 mg/ml	25 mg/ml	25 mg/ml	0 mg/ml	25 mg/ml	0 mg/ml
CBD-Gehalt	0 mg/ml	25 mg/ml	0 mg/ml	25 mg/ml	0 mg/ml	25 mg/ml
Probenvolumen	100 µl					
Verdünner	2 ml					
Akzeptanz-kriterium	THC: positiv CBD: negativ	THC: positiv CBD: positiv	THC: positiv CBD: negativ	THC: negativ CBD: positiv	THC: positiv CBD: negativ	THC: negativ CBD: positiv
Ergebnis	THC: positiv CBD: negativ	THC: positiv CBD: positiv	THC: positiv CBD: negativ	THC: negativ CBD: positiv	THC: positiv CBD: negativ	THC: negativ CBD: positiv

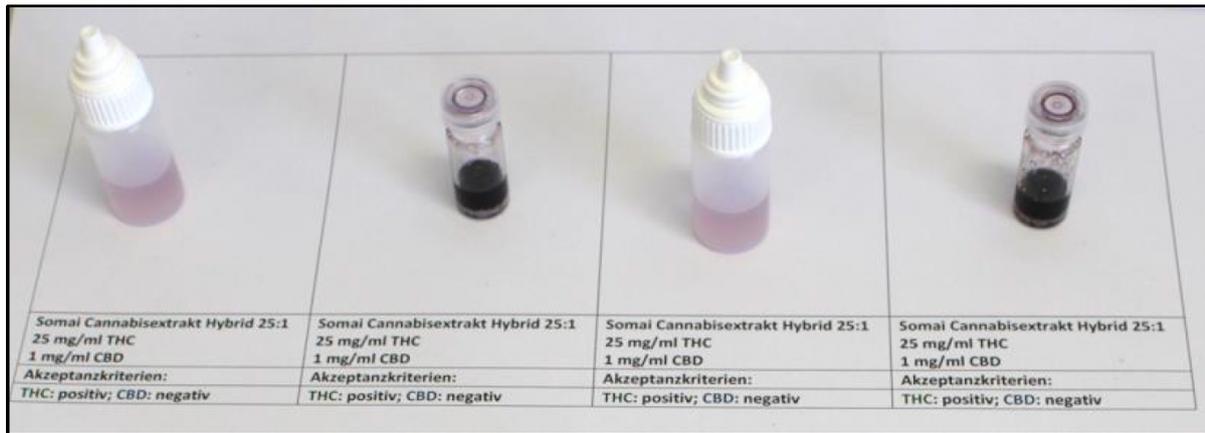


Abbildung 1: Fotos nach Durchführung des CannaFix-ID® THC/CBD Schnelltest-Sets beim Somai Cannabisextrakt Hybrid 25:1

Der Somai Cannabisextrakt Hybrid 25:1 wies in der ersten Stufe des Farbttest, nach der Reaktion mit dem Verdünner, eine sehr schwache, aber erkennbare violette Färbung auf. Diese unterscheidet sich jedoch deutlich von den verwendeten Referenzen. In der zweiten Stufe des Farbttests, nach der Reaktion des Verdünner-Extraktes mit der Farbreagenz und dem Entwickler, ergab sich ein tief-violetter Farbumschlag. Dieser resultiert aus einer chemischen Oxidation des im Extrakt enthaltenen Cannabigerols (CBG), welches im verwendeten Extrakt nach HPLC-Analyse bei einer Konzentration von 1,14 mg/ml lag. Bei Zugabe des alkalischen Verdünners reagiert CBG zum korrespondierenden Cannabigerolhydrochinon (CBGQ), dass eine violette Farbe im sichtbaren Adsorptionsbereich aufweist und somit den unerwarteten Farbumschlag während des ersten Schritts erklärt (*Mechoulam, R.; Ben-Zvi, Z. & Gaoni, Y. Hashsh-XIII: On the Nature of the Beam Test. Tetrahedron 1968, 24, 5615–5626., Caprioglio, D., Mattoteia D., Tagliatela-Scafati O., Muñoz E. & Giovanni A. Cannabinoquinones: Synthesis and Biological Profile. Biomolecules 2021, 11(7), 991.*)

Die Farbumschläge aller weiteren untersuchten Substanzen entsprachen der in Abbildung 11 dargestellten Farbskala. Somit erfüllte der Tests für den Somai Cannabisextrakt Hybrid 25:1, 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
Δ^9 -THC-Gehalt	0 mg/ml	0 mg/ml
CBD-Gehalt	0 mg/ml	0 mg/ml
Probenvolumen	100 μ l	-
Verdünner	2 ml	2 ml
Akzeptanzkriterium	THC: negativ CBD: negativ	THC: negativ CBD: negativ
Ergebnis	THC: negativ CBD: negativ	THC: negativ CBD: negativ

5.2 Dünnschichtchromatographie nach DAB

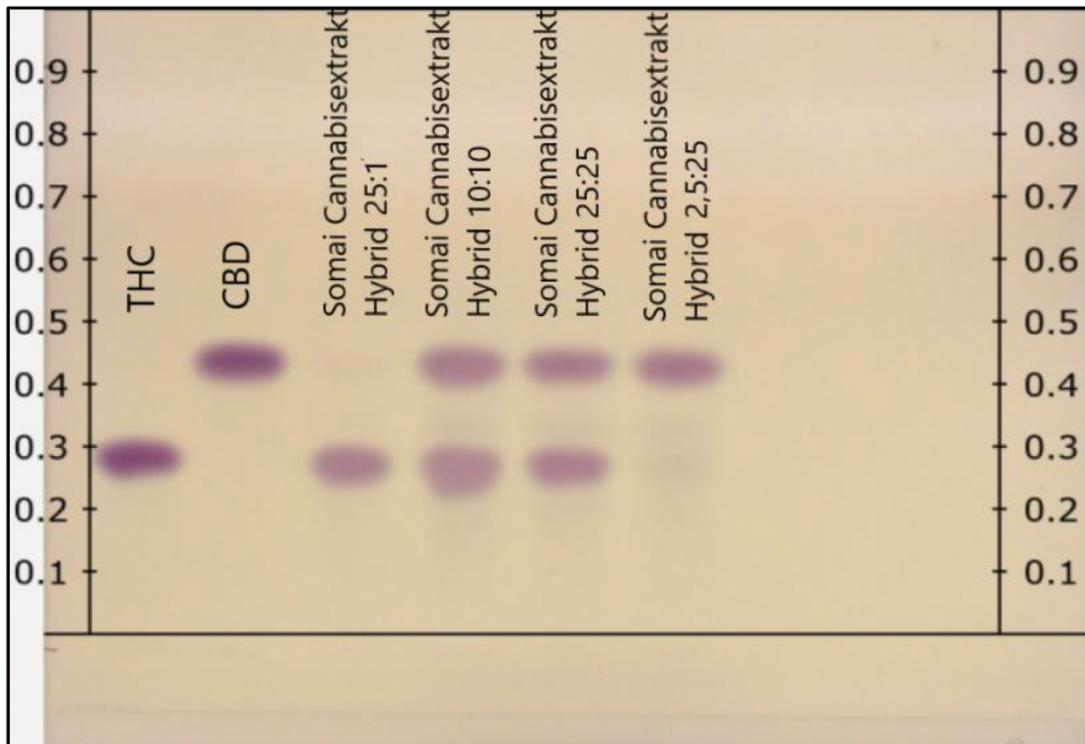


Abbildung 2: Auswertung der Dünnschichtchromatographie des Somai Cannabisextract Hybrid 25:1 sowie eines THC-Standards und eines CBD-Standards

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 25:1] Cannabisextrakt	[Somai Cannabisextrakt Hybrid 25:1] Cannabisextrakt	[Somai Cannabisextrakt Hybrid 25:1] Cannabisextrakt
Anzahl (n)	1	1	1
Δ^9 -THC -Gehalt	25 mg/ml	Die Ergebnisse der Eignungsprüfung gelten hier ebenfalls. 100 μl	25 mg/ml
CBD-Gehalt	0 mg/ml		0 mg/ml
Probenvolumen	75 μl		125 μl
Verdünner	2 ml		2 ml
Anzahl	n = 1		n = 1
Akzeptanzkriterium	THC: positiv CBD: negativ	THC: positiv CBD: negativ	THC: positiv CBD: negativ
Ergebnis	THC: positiv CBD: negativ	THC: positiv CBD: negativ	THC: positiv CBD: negativ

7 Zusammenfassung und Bewertung

Das CannaFix-ID THC/CBD Schnelltest-Set wurde für die Bestimmung von THC und CBD im Somai Cannabisextrakt Hybrid 25:1 in vollem Umfang validiert. Bei den Validierungs-Parametern Eignungsprüfung der Identität, Spezifität und Robustheit wurden alle Akzeptanzkriterien erfüllt.

Da es sich bei den Somai Cannabisextrakten um sehr klare, farblose Flüssigkeiten handelt, sind in der ersten Stufe bereits sehr geringe Konzentrationen von Cannabidiol in den Extrakten visuell nachweisbar. Im Falle des Somai Cannabisextrakt Hybrid 25:1 liegt zudem eine relevante Konzentration von Cannabigerol vor, welche zu einem sehr schwachen, violetten Farbumschlag führt. Dennoch unterscheiden sich die Farbergebnisse der getesteten Somai Cannabisextrakte Hybrid 2,5:25, 10:10, 25:25 und 25:1 so deutlich voneinander, dass die eine klare Abgrenzung der verschiedenen Produkte dieses Herstellers einwandfrei möglich ist und somit Etikettier- und Abpackfehler mithilfe dieser Prüfmethode ausgeschlossen werden können. Daher eignet sich das CannaFix-ID THC/CBD Schnelltest-Set zur alternativen Identitätsfeststellung des Somai Cannabisextrakt Hybrid 25:1.