

Kurzbericht Validierung

(VR-21-101-V1)

Identität von THC und CBD in

10/10 Vayamed Cannabisextrakt No 1 (THC 10 mg/ml; CBD 10 mg/ml)

Mittels

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

Inhaltsverzeichnis

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

1 Zusammenfassung

Dieser Validierungsbericht beschreibt die Validierung einer Identitätsmethode zur Identifizierung von Δ^9 -THC und Cannabidiol (CBD) in Cannabis Extrakten mit 10 mg/ml Δ^9 -THC und 10 mg/ml CBD (10/10 Vayamed Cannabisextrakt) gemäß ICH Q2(R1). Die Analysenmethode wurde im Labor von Wessling Münster validiert. Ziel der Validierung ist der Nachweis über die Eignung des CannaFIX-ID® THC/CBD-Schnelltests zur Identifizierung von Δ^9 -THC und CBD im Cannabis Extrakt. Der verwendete Cannabis Extrakt ist in MCT-Öl eingestellt. 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	Azeptanzkriterien
Eignungsprüfung der Methode: Identität, Δ^9 -THC / CBD	<p><u>Probe: THC10:CBD10 (je 10 mg/ml)</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/CBD-Spike: CBD/THC (je 10 mg/ml in MCT)</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>CBD-Spike: CBD 10 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>THC-Spike: Δ^9-THC 10 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-Referenz: CBD 10 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-Vergleichslösung: Δ^9-THC 10 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>Probe: THC10:CBD10 (n = 3)</u> Identität CBD: Positiv Identität THC: Positiv</p> <p><u>THC/CBD-Spike (n = 3)</u> Identität CBD: Positiv Identität THC: Positiv</p> <p><u>CBD-Spike (n = 1)</u> Identität CBD: Positiv Identität THC: Negativ</p> <p><u>THC-Spike (n = 1)</u> Identität CBD: Negativ Identität THC: Positiv</p> <p><u>CBD-Referenz (n = 1)</u> Identität CBD: Positiv</p> <p><u>THC-Vergleichslösung (n = 1)</u> Identität CBD: Negativ Identität THC: Positiv</p>
Spezifität der Methode	<p><u>Reagenzien-Blank</u> Verdünner wird mit Farbreagenz gemischt und entwickelt.</p> <p><u>MCT-Blank</u> MCT-Öl ohne CBD/THC) wird mit Verdünner (Stufe 1) und Farbreagenz (Stufe 2) geprüft.</p>	<p><u>Reagenzien-Blank (je n = 1)</u> Identität CBD: Negativ Identität THC: Negativ</p> <p><u>MCT-Blank</u> Identität CBD: Negativ Identität THC: Negativ</p>
Robustheit	<p><u>Probe: THC10:CBD10 (je 10 mg/ml)</u> Die Probenmenge ist zu variieren (Normal: 100 µl). Kleinere Probenmenge (75 µl) Größere Probenmenge (125 µl)</p>	<p><u>Probe: THC10:CBD10 (je n = 1)</u> Identität CBD: Positiv Identität THC: Positiv</p>

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 Extrakt THC10/CBD 10 Extrakt	CBD/THC-Spike	CBD-Spike	THC-Spike	CBD Referenz	THC Vergleichslösung
Δ^9 -THC -Gehalt	10 mg/ml	10 mg/ml	0 mg/ml	10 mg/ml	0 mg/ml	10 mg/ml
CBD-Gehalt	10 mg/ml	10 mg/ml	10 mg/ml	0 mg/ml	10 mg/ml	0 mg/ml
Probenvolumen	100 μ l	100 μ l	100 μ l	100 μ l	100 μ l	100 μ l
Verdünner	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml
Anzahl	n = 3	n = 3	n = 1	n = 1	n = 1	n = 1

Tabelle 3: Untersuchungslösungen für Prüfung der Selektivität

Probe	Reagenzien-Blank	MCT-Blank (Trägeröl)
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
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.

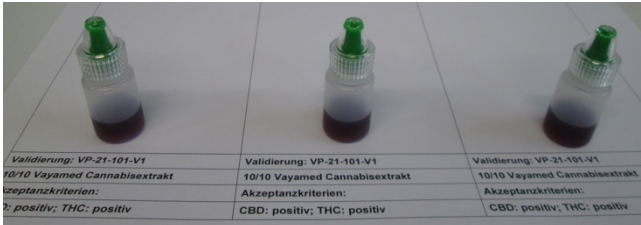

Tabelle 4: Methoden-Robustheit (Probenvolumen)

Probe	Vayamed Extrakt THC10/CBD 10 Extrakt	Vayamed Extrakt THC10/CBD 10 Extrakt
Δ^9 -THC -Gehalt	10 mg/ml	10 mg/ml
CBD-Gehalt	10 mg/ml	10 mg/ml
Probenvolumen	75 μ l	125 μ l
Verdünner	2 ml	2 ml
Anzahl	n = 1	n = 1

4 Ergebnisse

Die Validierungsergebnisse werden in der folgenden Tabelle dargestellt.

Tabelle 5: Ergebnisse der Validierungsexperimente

Reagenzien-Blank			
Ergebnis:	CBD: negativ	THC: Negativ	Validierung: bestanden
Matrix-Blank:			
Ergebnis:	CBD: negativ	THC: Negativ	Validierung: bestanden
CBD-Referenz			
Ergebnis:	CBD: positiv	THC: Negativ	Validierung: bestanden
THC-Vergleichslösung			
Ergebnis:	CBD: negativ	THC: positiv	Validierung: bestanden
CBD-Spike			
Ergebnis:	CBD: positiv	THC: negativ	Validierung: bestanden
THC-Spike			
Ergebnis:	CBD: negativ	THC: positiv	Validierung: bestanden
THC/CBD-Spike			
Ergebnis:	CBD: positiv		Validierung: bestanden
THC/CBD-Spike			
Ergebnis:		THC: positiv	Validierung: bestanden
Probe: THC10: CBD10			
			
Ergebnis:	CBD: positiv		Validierung: bestanden
Probe: THC10: CBD10			
			
Ergebnis:		THC: positiv	Validierung: bestanden
Robustness: THC10: CBD10			
Ergebnis:	CBD: positiv		Validierung: bestanden
Robustness: THC10: CBD10			
Ergebnis:		THC: positiv	Validierung: bestanden
Ende der Tabelle 5.			

5 Bewertung

Der geprüfte CannaFIX-ID® THC/CBD Test ist zur Identifizierung von CBD und Δ^9 -THC in 10/10 Vayamed Cannabisextrakt No 1 PZN 16807584 vollumfänglich geeignet. 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 10/10 Vayamed Cannabisextrakt No 1 PZN 16807584 mit einem Gehalt von 10 mg/ml Δ^9 -THC und 10 mg/ml CBD validiert.