

Kurzbericht Validierung

(VR-22-010-V1)

Identität von THC und CBD in

21/1 AVAAY Cannabis Flos

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 in Cannabis Blüten (21/1 AVAAY Cannabis Flos; 19,1% THC < 0,1% CBD) 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 in Cannabis Blüten (21/1 AVAAY Cannabis Flos; 19,1% THC < 0,1% CBD). Beim Testsystem handelt es sich um einen 2-stufigen Farbtest, 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	<u>Probe: Cannabis Blüte (19.1% THC < 0.1% CBD)</u> Stufe 1: Keine violette Farbe → Identität CBD: Negativ Stufe 2: Bei deutlichem Unterschied zwischen der Farbe der Probe und der Farbe der CBD-Referenz → Identität THC: Positiv <u>CBD-Spike: CBD 2 mg/ml (25 mg Kräutertee)</u> Stufe 1: Violette Farbe → Identität CBD: Positiv Stufe 2: Farbe dient als Referenz zur Beurteilung der Probe und der THC-Referenz. <u>CBD-Spike: CBD 2 mg/ml (25 mg Cannabis Blüte)</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 <u>THC-Spike Δ^9-THC 50 mg/ml (25 mg Kräutertee)</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	<u>Probe: Cannabis Blüte (n = 3)</u> Identität CBD: Negativ Identität THC: Positiv <u>CBD-Referenz (n = 1)</u> Identität CBD: Positiv <u>THC-Vergleichslösung (n = 3)</u> Identität CBD: Negativ Identität THC: Positiv
Spezifität der Methode	<u>Reagenzien-Blank</u> Verdünner wird mit Farbreagenz gemischt und entwickelt. <u>Matrix-Blank</u> Kräuterteemischung (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>Matrix-Blank</u> Identität CBD: Negativ Identität THC: Negativ
Robustheit	<u>Probe: Cannabis Blüte (19.1% THC < 0.1% CBD)</u> Die Probenmenge ist zu variieren (Normal: 25 mg). Kleinere Probenmenge (10 mg) Größere Probenmenge (30 mg)	<u>Probe: Cannabis Blüte (je n = 1)</u> Identität CBD: Negativ Identität THC: Positiv

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	Cannabis Blüte (21/1 AVAAY Cannabis Flos)	THC- Spike	CBD Spike (Matrix)	CBD Spike (Probe)
Δ^9 -THC -Gehalt	19,1%	20 mg/ml	0 mg/ml	19,1%
CBD-Gehalt	< 0,1%	0 mg/ml	2 mg/ml	2 mg/ml
Probenmenge	25 mg Probe 1: 25,20 mg Probe 2: 25,19 mg Probe 3: 24,83 mg	25 mg Matrix 100 µl: THC-Stock	25 mg Matrix 100 µl: CBD-Stock	25 mg: 21/1 AVAAY Cannabis Flos 100 µl: CBD-Stock
Verdünner	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml
Anzahl	n = 3	n = 3	n = 1	n = 1

Tabelle 3: Untersuchungslösungen für Prüfung der Selektivität

Probe	Reagenzien- Blank	Matrix (Kräuterteemischung)
Δ^9 -THC -Gehalt	0 mg/ml	0 mg/ml
CBD-Gehalt	0 mg/ml	0 mg/ml
Probenmenge	-	25 mg
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	Cannabis Blüte (21/1 AVAAY Cannabis Flos)	Cannabis Blüte (21/1 AVAAY Cannabis Flos)
Δ^9 -THC -Gehalt	19,1%	19,1%
CBD-Gehalt	< 0,1%	< 0,1%
Probenmenge	9,87 mg	30,34 mg
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-Spike (Matrix)			
Ergebnis:	CBD: positiv	THC: negativ	Validierung: bestanden
CBD-Spike (Probe)			
Ergebnis:	CBD: positiv	THC: positiv	Validierung: bestanden
THC-Spike			
Ergebnis:	CBD: negativ	THC: positiv	Validierung: bestanden
Probe: 21/1 AVAAY Cannabis Flos			
			
Anmerkung: Das Extrakt in der Verdünerflasche war grünlich/bräunlich gefärbt. Ein violetter Farbton war visuell nicht wahrnehmbar.			
Ergebnis:	CBD: negativ	Validierung:	bestanden
Probe: 21/1 AVAAY Cannabis Flos			
			
Ergebnis:	THC: positiv	Validierung:	bestanden
Robustness: 21/1 AVAAY Cannabis Flos			
Ergebnis:	CBD: negativ	THC: positiv	Validierung: bestanden
Beide Robustness-Proben zeigen keine Violett-Färbung. Die CBD-Spike-Probe hat eine deutliche Violett-Färbung.			
Ende der Tabelle 5.			

5 Bewertung

Der geprüfte CannaFIX-ID® THC/CBD Test ist zur Identifizierung von Δ^9 -THC in 21/1 AVAAY Cannabis Flos PZN 17856194 vollumfänglich geeignet. Der Nachweis von CBD in CBD-Spike-Matrix und CBD-

Spike-Probe geling eindeutig. Beide Verdünnerflaschen wiesen eine violette Farbe aus, wobei die Menge an gespikten CBD (0.2 mg) ca. 0,8% der Probeneinwaage entsprachen.

Auf der Stufe der Verdünnerflasche wiesen die 21/1 AVAAY Cannabis flos-Proben keine Violettfärbung auf (CBD: negativ). Ebenso zeigten die Robustness-Proben auf dieser Stufe keine Violettfärbung (CBD: negativ).

Alle mit 21/1 AVAAY Cannabis flos durchgeführten Prüfungen (Proben und Robustness-Proben) fielen auf Stufe 2 (entwickelte Ampullen) THC positiv aus. Die entsprechenden Ampullen zeigten alle eine tiefviolette Farbe (THC: positiv).

Der Nachweis von Δ^9 -THC in 21/1 AVAAY Cannabis Flos PZN 17856194 geling einfach, sicher und schnell.

Es wurden alle Akzeptanzkriterien des Validierungsplanes eingehalten. Das Verfahren ist für zur Identifizierung von Δ^9 -THC in 21/1 AVAAY Cannabis Flos PZN 17856194 validiert.