

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	Azeptanzkriterien
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	Azeptanzkriterien
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 Δ⁹-THC wurde bei der 2 mg/ml THC-Spike Probe erreicht. Somit ist Δ⁹-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.