

Kurzbericht Validierung

Identität von THC und CBD in

RE:CANNIS Extrakt 3/1

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) im RE:CANNIS Extrakt 3/1 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 RE:CANNIS Extrakt 3/1. Der verwendete Cannabis Extrakt ist in MCT-Öl eingestellt. 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: Zusammenfassung der Akzeptanzkriterien und Prüfparameter

Parameter	Beschreibung und Erwartungswerte	Akzeptanzkriterien
Eignungsprüfung der Methode: Identität, Δ^9 -THC / CBD	<p><u>Probe: RE:CANNIS Extrakt 3/1</u> Stufe 1: Keine violette Farbe → Identität CBD: Negativ Stufe 2: Violett → Identität THC: Positiv</p> <p><u>THC/CBD-Spike: (30 mg/ml THC, 10 mg/ml CBD in 1ml MCT-Öl)</u> Stufe 1: Violette Farbe → Identität CBD: Positiv Stufe 2: Violett-braun → Identität THC: Positiv</p> <p><u>CBD-Spike: CBD 30 mg/ml (in MCT)</u> Stufe 1: Violette Farbe → Identität CBD: Positiv Stufe 2: Orange → Identität THC: Negativ</p> <p><u>THC-Spike: Δ^9-THC 30 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 30 mg/ml (in 2-Propanol)</u> Stufe 1: Violette Farbe → Identität CBD: Positiv Stufe 2: Orange, Farbe dient als Referenz zur Beurteilung der Probe, der Spike-Proben und der THC-Referenz.</p> <p><u>THC-Referenz: Δ^9-THC 30 mg/ml (in 2-Propanol)</u> Stufe 1: Keine Farbe → Identität CBD: Negativ Stufe 2: Violett → Identität THC: Positiv</p> <p>Probe RE:CANNIS Extrakt 3/1 + 0 mg/ml CBD ($\sum \leq 1$ mg/ml CBD) Probe RE:CANNIS Extrakt 3/1 + 1 mg/ml CBD ($\sum \leq 2$ mg/ml CBD) Probe RE:CANNIS Extrakt 3/1 + 2 mg/ml CBD ($\sum \leq 3$ mg/ml CBD) Probe RE:CANNIS Extrakt 3/1 + 3 mg/ml CBD ($\sum \leq 4$ mg/ml CBD) Probe RE:CANNIS Extrakt 3/1 + 4 mg/ml CBD ($\sum \leq 5$ mg/ml CBD)</p>	<p><u>Probe: RE:CANNIS Extrakt 3/1 (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>CBD-Spike (n = 1)</u> Identität THC: Negativ Identität CBD: Positiv</p> <p><u>THC-Spike (n = 1)</u> Identität THC: Positiv Identität CBD: Negativ</p> <p><u>CBD-Referenz (n = 1)</u> Identität THC: Negativ Identität CBD: Positiv</p> <p><u>THC-Referenz (n = 1)</u> Identität THC: Positiv Identität CBD: Negativ</p> <p><u>Spike-Proben (+CBD) je n=1</u> Identität CBD: Negativ/Positiv Identität THC: Positiv 1) Evaluierung der Nachweisgrenze von CBD</p>
Spezifität der Methode	<p><u>Probe: RE:CANNIS Extrakt 3/1</u> Dünnschichtchromatographie gemäß DAB-Monographie „Eingestellter Cannabisextrakt“</p> <p><u>Reagenzien-Blank</u> Verdünner wird mit Farbreagenz gemischt und entwickelt. → keine Farbreaktion</p>	<p><u>Probe: RE:CANNIS Extrakt 3/1 (je n = 1)</u> Identität identisch zu CannaFix-ID THC/CBD Schnelltest-Sets</p> <p><u>Reagenzien-Blank (je n = 1)</u> Identität CBD: Negativ Identität THC: Negativ</p>

Parameter	Beschreibung und Erwartungswerte	Akzeptanzkriterien
	<u>MCT-Blank</u> MCT-Öl (ohne CBD/THC) wird mit Verdünner (Stufe 1) und Farbreagenz (Stufe 2) geprüft. → keine Farbreaktion	<u>MCT-Blank</u> Identität CBD: Negativ Identität THC: Negativ
Robustheit	<u>Probe: RE:CANNIS Extrakt 3/1</u> Die Probenmenge ist zu variieren (Normal: 100 µl). Kleinere Probenmenge (75 µl) Größere Probenmenge (125 µl)	<u>Probe: RE:CANNIS Extrakt 3/1</u> (je n = 1) 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	RE:CANNIS Extrakt 3/1	CBD/THC-Spike	THC-Spike	CBD-Spike	THC Vergleichslösung	CBD Referenz
Anzahl (n)	3	1	1	1	1	1
Δ ⁹ -THC -Gehalt	31,20 mg/ml*	30 mg/ml	30 mg/ml	0 mg/ml	30 mg/ml	0 mg/ml
CBD-Gehalt	0,31 mg/ml**	30 mg/ml	0 mg/ml	30 mg/ml	0 mg/ml	30 mg/ml
Probenvolumen	100 µl					
Verdünner	2 ml					
Akzeptanzkriterium	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

* Herstellerangabe THC 3 % (m/m) und CBD < 1 % (m/m) entspricht THC 31,20 mg/ml und CBD < 10,40 mg/ml.

** Es wird aufgrund der weit gefassten Spezifikation der tatsächliche CBD-Gehalt angegeben.

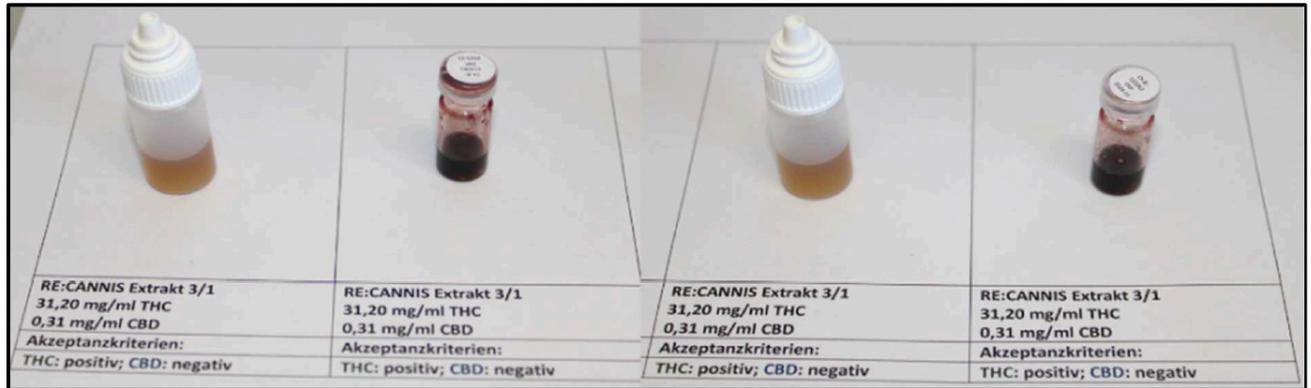


Abbildung 1: Fotos nach Durchführung des CannaFix-ID® THC/CBD Schnelltest-Sets beim RE:CANNIS Extrakt 3/1

Der RE:CANNIS Extrakt 3/1 wies in der ersten Stufe des Farbtest, nach der Reaktion mit dem Verdüner, durch die Eigenfarbe des Cannabisextraktes eine gelbliche Färbung auf. Diese unterscheidet sich deutlich von den verwendeten Referenzen. In der zweiten Stufe des Farbtests, nach der Reaktion des Verdünner-Extraktes mit der Farbreagenz und dem Entwickler, ergab sich ein violett-brauner Farbumschlag. Die Farbumschläge aller weiteren untersuchten Substanzen entsprachen der Farbskala. Somit erfüllte der Tests für den RE:CANNIS Extrakt 3/1, 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

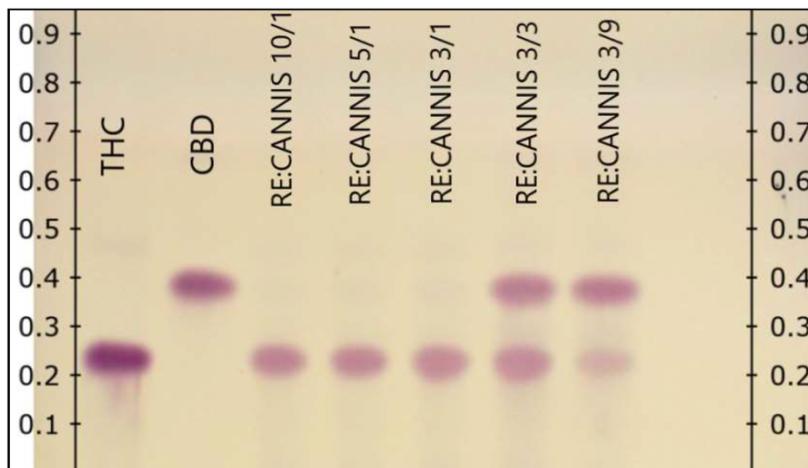


Abbildung 2: Auswertung der Dünnschichtchromatographie der RE:CANNIS Cannabisextrakte sowie eines THC-Standards und eines CBD-Standards

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	RE:CANNIS Extrakt 3/1	RE:CANNIS Extrakt 3/1	RE:CANNIS Extrakt 3/1
Anzahl (n)	1	Die Ergebnisse der Eignungsprüfung gelten hier ebenfalls. 100 µl	1
Δ ⁹ -THC -Gehalt	25 mg/ml		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
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 RE:CANNIS Extrakt 3/1 in vollem Umfang validiert. Bei den Validierungs-Parametern Eignungsprüfung der Identität, Spezifität und Robustheit wurden alle Akzeptanzkriterien erfüllt. Daher eignet sich das CannaFix-ID THC/CBD Schnelltest-Set zur alternativen Identitätsfeststellung des RE:CANNIS Extrakt 3/1.