

# Kurzbericht Validierung

Identität von THC und CBD in

## Hormosan Cannabisextrakt THC20: CBD6

Mittels

## Hormosan Quick-ID THC/CBD Schnelltest-Set

(basierend auf der CannaFix-ID<sup>®</sup> Technologie)

### Inhaltsverzeichnis

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

## 1 Vorbemerkung

Dieser Validierungsbericht beschreibt die Validierung einer Identitätsmethode zur Identifizierung von  $\Delta^9$ -THC und Cannabidiol (CBD) in Hormosan Cannabisextrakt THC20\_CBD6 gemäß ICH Q2(R1). Ziel der Validierung ist der Nachweis über die Eignung des Hormosan Quick-ID THC/CBD-Schnelltest-Sets zur Identifizierung von  $\Delta^9$ -THC und CBD im Hormosan Cannabisextrakt THC20\_CBD6. Der verwendete Cannabis Extrakt ist in MCT-Öl eingestellt. Beim Testsystem handelt es sich um einen 2-stufigen Farbtest, welcher die strukturellen Unterschiede von  $\Delta^9$ -THC und CBD ausnutzt.

## 2 Akzeptanzkriterien und Prüfparameter

Tabelle 1: Zusammenfassung der Akzeptanzkriterien und Prüfparameter

| Parameter   | Beschreibung und Erwartungswerte  | Akzeptanzkriterien   |
|---|---|--|
| Eignungsprüfung der Methode: Identität, $\Delta^9$ -THC / CBD | <p><u>Probe: Hormosan Cannabisextrakt THC20_CBD6</u><br/>           Stufe 1: Violette Farbe → Identität CBD: Positiv<br/>           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: (20 mg/ml THC, 6 mg/ml CBD in 1ml MCT-Öl)</u><br/>           Stufe 1: Violette Farbe → Identität CBD: Positiv<br/>           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 6 mg/ml (in MCT)</u><br/>           Stufe 1: Violette Farbe → Identität CBD: Positiv<br/>           Stufe 2: Farbe hat der Farbe der CBD-Referenz zu entsprechen.<br/>           → Identität THC: Negativ</p> <p><u>THC-Spike: <math>\Delta^9</math>-THC 20 mg/ml (in MCT)</u><br/>           Stufe 1: Keine Farbe → Identität CBD: Negativ<br/>           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 6 mg/ml (in 2-Propanol)</u><br/>           Stufe 1: Violette Farbe → Identität CBD: Positiv<br/>           Stufe 2: Farbe dient als Referenz zur Beurteilung der Probe, der Spike-Proben und der THC-Referenz.</p> <p><u>THC-Referenz: <math>\Delta^9</math>-THC 20 mg/ml (in 2-Propanol)</u><br/>           Stufe 1: Keine Farbe → Identität CBD: Negativ<br/>           Stufe 2: Bei deutlichem Unterschied zwischen der Farbe der Probe und der Farbe der CBD-Referenz → Identität THC: Positiv</p> | <p><u>Probe: Hormosan Cannabisextrakt THC20_CBD6 (n = 3)</u><br/>           Identität CBD: Positiv<br/>           Identität THC: Positiv</p> <p><u>THC/CBD-Spike (n = 1)</u><br/>           Identität THC: Positiv<br/>           Identität CBD: Positiv</p> <p><u>CBD-Spike (n = 1)</u><br/>           Identität THC: Negativ<br/>           Identität CBD: Positiv</p> <p><u>THC-Spike (n = 1)</u><br/>           Identität THC: Positiv<br/>           Identität CBD: Negativ</p> <p><u>CBD-Referenz (n = 1)</u><br/>           Identität THC: Negativ<br/>           Identität CBD: Positiv</p> <p><u>THC-Vergleichslösung (n = 1)</u><br/>           Identität THC: Positiv<br/>           Identität CBD: Negativ</p> |
| Spezifität der Methode  | <p><u>Probe: Hormosan Cannabisextrakt THC20_CBD6</u><br/>           Dünnschichtchromatographie gemäß DAB-Monographie „Eingestellter Cannabisextrakt“</p> <p><u>Reagenzien-Blank</u><br/>           Verdünner wird mit Farbreagenz gemischt und entwickelt.</p> <p><u>MCT-Blank</u></p>  | <p><u>Probe: Hormosan Cannabisextrakt THC20_CBD6 (je n = 1)</u><br/>           Identität identisch zu Quick-ID THC/CBD Schnelltest-Set</p> <p><u>Reagenzien-Blank (je n = 1)</u><br/>           Identität CBD: Negativ<br/>           Identität THC: Negativ</p> <p><u>MCT-Blank</u><br/>           Identität CBD: Negativ</p>   |

| Parameter  | Beschreibung und Erwartungswerte  | Akzeptanzkriterien   |
|------------|---|--|
|            | MCT-Öl ohne CBD/THC) wird mit Verdünner (Stufe 1) und Farbreagenz (Stufe 2) geprüft.  | Identität THC: Negativ   |
| Robustheit | <u>Probe: Hormosan Cannabisextrakt THC20 CBD6</u><br>Die Probenmenge ist zu variieren (Normal: 100 µl).<br>Kleinere Probenmenge (75 µl)<br>Größere Probenmenge (125 µl) | <u>Probe: Hormosan Cannabisextrakt THC20 CBD6</u><br><u>(je n = 1)</u><br>Identität CBD: Positiv<br>Identität THC: Positiv |

### 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                       | Hormosan Cannabisextrakt THC20_CBD6  | CBD/THC-Spike-                       | THC-Spike                            | CBD-Spike                            | THC Vergleichslösung                 | CBD Referenz                         |
|-----------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| <b>Anzahl (n)</b>           | <b>3</b>                             | <b>1</b>                             | <b>1</b>                             | <b>1</b>                             | <b>1</b>                             | <b>1</b>                             |
| Δ <sup>9</sup> -THC -Gehalt | 20 mg/ml                             | 20 mg/ml                             | 20 mg/ml                             | 0 mg/ml                              | 20 mg/ml                             | 0 mg/ml                              |
| CBD-Gehalt                  | 6 mg/ml                              | 6 mg/ml                              | 0 mg/ml                              | 6 mg/ml                              | 0 mg/ml                              | 6 mg/ml                              |
| Probenvolumen               | 100 µl                               |
| Verdünner                   | 2 ml                                 |
| Akzeptanzkriterium          | THC: positiv<br>CBD: positiv         | THC: positiv<br>CBD: positiv         | THC: positiv<br>CBD: negativ         | THC: negativ<br>CBD: positiv         | THC: positiv<br>CBD: negativ         | THC: negativ<br>CBD: positiv         |
| <b>Ergebnis</b>             | <b>THC: positiv<br/>CBD: positiv</b> | <b>THC: positiv<br/>CBD: positiv</b> | <b>THC: positiv<br/>CBD: negativ</b> | <b>THC: negativ<br/>CBD: positiv</b> | <b>THC: positiv<br/>CBD: negativ</b> | <b>THC: negativ<br/>CBD: positiv</b> |

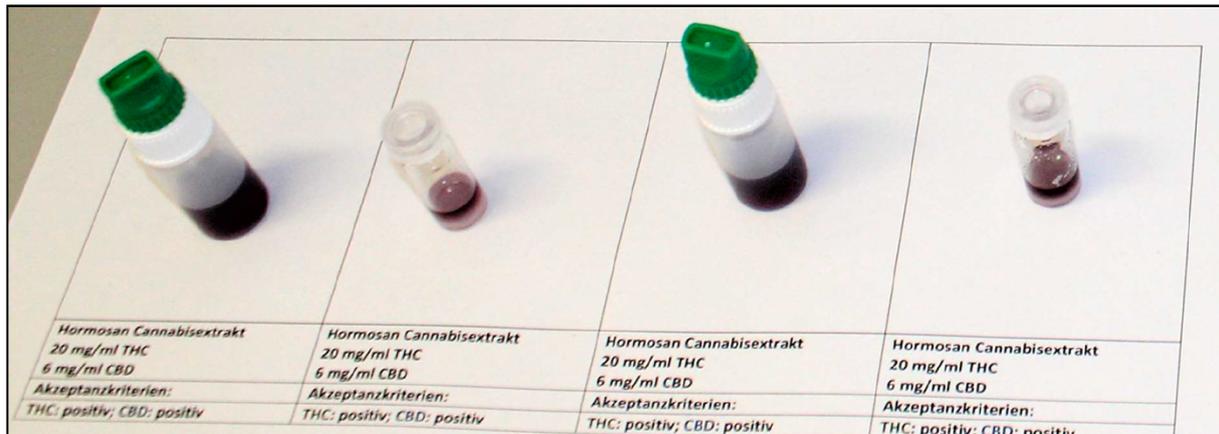


Abbildung 1: Fotos nach Durchführung des Hormosan Quick-ID THC/CBD Schnelltest-Sets beim Hormosan Cannabisextrakt THC20\_CBD6

Das Hormosan Cannabisextrakt THC20\_CBD6 wies in der ersten Stufe des Farbtests, nach der Reaktion mit dem Verdüner, eine deutliche violette Färbung auf. In der zweiten Stufe des Farbtests, nach der Reaktion des Verdüner-Extraktes mit der Farbreagenz und dem Entwickler, ergab sich ein braunvioletter Farbumschlag. Die Farbumschläge aller weiteren untersuchten Substanzen entsprachen ebenfalls der Farbskala. Somit erfüllte der Test für den Hormosan Cannabisextrakt THC20\_CBD6, 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                                    |
| $\Delta^9$ -THC-Gehalt | 0 mg/ml                              | 0 mg/ml                              |
| CBD-Gehalt             | 0 mg/ml                              | 0 mg/ml                              |
| Probenvolumen          | 100 $\mu$ l                          | -                                    |
| Verdünner              | 2 ml                                 | 2 ml                                 |
| Akzeptanzkriterium     | THC: negativ<br>CBD: negativ         | THC: negativ<br>CBD: negativ         |
| Ergebnis               | <b>THC: negativ<br/>CBD: negativ</b> | <b>THC: negativ<br/>CBD: negativ</b> |

## 5.2 Dünnschichtchromatographie nach DAB

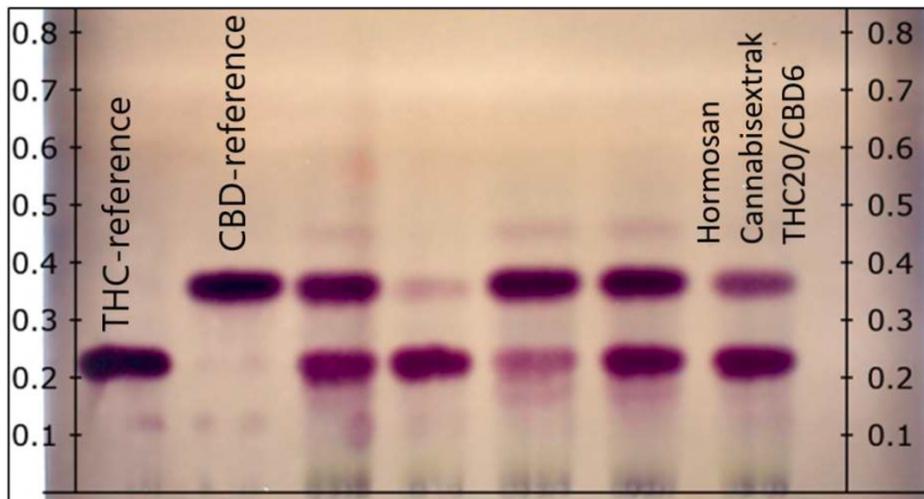


Abbildung 2: Auswertung der Dünnschichtchromatographie des Hormosan Cannabisextrakts THC20\_CBD6 sowie eines THC-Standards und eines CBD-Standards

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                   | [Hormosan THC26_CBD6]<br>Cannabisextrakt | [Hormosan THC26_CBD6]<br>Cannabisextrakt  | [Hormosan THC26_CBD6]<br>Cannabisextrakt |
|-------------------------|--|---|--|
| Anzahl (n)              | 1  | 1   | 1  |
| $\Delta^9$ -THC -Gehalt | 20 mg/ml                                 | Die Ergebnisse der<br>Eignungsprüfung gelten hier<br>ebenfalls.<br><b>100 <math>\mu</math>l</b> | 20 mg/ml                                 |
| CBD-Gehalt              | 6 mg/ml                                  |   | 6 mg/ml                                  |
| Probenvolumen           | <b>75 <math>\mu</math>l</b>              |   | <b>125 <math>\mu</math>l</b>             |
| Verdünner               | 2 ml                                     |   | 2 ml                                     |
| Anzahl                  | n = 1                                    |   | n = 1                                    |
| Akzeptanzkriterium      | THC: positiv<br>CBD: positiv             | THC: positiv<br>CBD: positiv  | THC: positiv<br>CBD: positiv             |
| Ergebnis                | <b>THC: positiv<br/>CBD: positiv</b>     | <b>THC: positiv<br/>CBD: positiv</b>  | <b>THC: positiv<br/>CBD: positiv</b>     |

## 7 Zusammenfassung und Bewertung

Das Hormosan Quick-ID THC/CBD Schnelltest-Set wurde für die Bestimmung von THC und CBD im Hormosan Cannabisextrakt THC20\_CBD6 in vollem Umfang validiert. Bei den Validierungs-Parametern Eignungsprüfung der Identität, Spezifität und Robustheit wurden alle Akzeptanzkriterien erfüllt. Daher

eignet sich das Hormosan Quick-ID THC/CBD Schnelltest-Set zur alternativen Identitätsfeststellung des Hormosan Cannabisextrakt THC20\_CBD6.