

# **Kurzbericht Validierung**

(VR-21-083-V1)

Identität von THC und CBD in

**Vayamed 50/1**  
**(THC 50 mg/ml; CBD ≤ 1 mg/ml)**

Mittels

**CannaFix-ID<sup>®</sup> 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  $\Delta^9$ -THC in Vayamed 50/1 (THC 50 mg/ml; CBD  $\leq$  1 mg/ml) (Cannabisextrakt mit 50 mg/ml  $\Delta^9$ -THC und  $\leq$  1 mg/ml CBD) gemäß ICH Q2(R1). Die Analysenmethode wurde im Labor von Wessling Münster validiert. Ziel der Validierung war der Nachweis über die Eignung des CannaFIX-ID® THC/CBD-Schnelltests zur Identifizierung von  $\Delta^9$ -THC in Vayamed 50/1 (THC 50 mg/ml; CBD  $\leq$  1 mg/ml) und die Evaluierung der Nachweisgrenze von CBD. Der verwendete Cannabisextrakt ist in MCT-Öl eingestellt. Beim Testsystem handelt es sich um einen 2-stufigen Farbttest, welcher die strukturellen Unterschiede von  $\Delta^9$ -THC und CBD ausnutzt.

## 2 Akzeptanzkriterien und Prüfparameter

Tabelle 1: Übersicht: Studienumfang, Prüfparameter und Akzeptanzkriterien

Parameter	Beschreibung und Erwartungswerte	Azeptanzkriterien
Eignungsprüfung der Methode: Identität, $\Delta^9$ -THC / CBD	<p><u>Probe: THC50:CBD <math>\leq</math> 1</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 5 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: 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>MCT-THC-Spike: THC 50 mg/ml</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>Spike-Proben (+ CBD)</u> Probe THC50:CBD <math>\leq</math> 1+ 0 mg/ml CBD (<math>\Sigma \leq</math> 1 mg/ml CBD) Probe THC50:CBD <math>\leq</math> 1+ 1 mg/ml CBD (<math>\Sigma \leq</math> 2 mg/ml CBD) Probe THC50:CBD <math>\leq</math> 1+ 2 mg/ml CBD (<math>\Sigma \leq</math> 3 mg/ml CBD) Probe THC50:CBD <math>\leq</math> 1+ 3 mg/ml CBD (<math>\Sigma \leq</math> 4 mg/ml CBD) Probe THC50:CBD <math>\leq</math> 1+ 4 mg/ml CBD (<math>\Sigma \leq</math> 5 mg/ml CBD)</p> <p>Stufe 1: keine Farbe → Identität CBD: Negativ <sup>1)</sup> Stufe 1: violette Farbe → Identität CBD: Positiv <sup>1)</sup></p> <p>Stufe 2: Bei deutlichem Unterschied zwischen der Farbe der Spike-Probe und der Farbe der CBD-Referenz → Identität THC: Positiv</p> <p>1) Es ist die Konzentration an CBD zu evaluieren, ab welcher die Identität von CBD nachweisbar ist.</p>	<p><u>Probe: THC50:CBD <math>\leq</math> 1 (n = 3)</u> Identität CBD: Negativ Identität THC: Positiv</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>MCT-THC-Spike (n = 3):</u> Identität CBD: Negativ Identität THC: Positiv</p> <p><u>Spike-Proben (+ CBD) je n = 1</u> Identität CBD: Negativ/Positiv <sup>1)</sup> Identität THC: Positiv</p> <p>1) Evaluierung der Nachweisgrenze von CBD.</p>

<b>Parameter</b>	<b>Beschreibung und Erwartungswerte</b>	<b>Azeptanzkriterien</b>
Spezifität der Methode	<u>Reagenzien-Blank</u> Verdünner wird mit Farbreagenz gemischt und entwickelt. <u>MCT-Blank</u> MCT-Öl 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>MCT-Blank</u> Identität CBD: Negativ Identität THC: Negativ
Robustheit	<u>Probe: THC50:CBD ≤ 1</u> Die Probenmenge ist zu variieren (Normal: 100 µl). Kleinere Probenmenge (75 µl) Größere Probenmenge (125 µl)	<u>Probe: THC50:CBD ≤ 1 (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	Vayamed 50/1 <sup>1)</sup>	Spike-Proben (+ CBD)	MCT-THC-Spike	CBD Referenz	THC-Referenz
$\Delta^9$ -THC -Gehalt	50 mg/ml	50 mg/ml	50 mg/ml	0 mg/ml	50 mg/ml
CBD-Gehalt	$\leq 1$ mg/ml	$\leq 1$ mg/ml $\leq 2$ mg/ml $\leq 3$ mg/ml $\leq 4$ mg/ml $\leq 5$ mg/ml	0 mg/ml	5 mg/ml	0 mg/ml
Probenvolumen	100 $\mu$ l	100 $\mu$ l Probe <sup>1)</sup> je 100 $\mu$ l CBD-Ref-0 bis -4	100 $\mu$ l THC-Stock 100 $\mu$ l MCT-Öl	100 $\mu$ l CBD-Ref-5	100 $\mu$ l THC-Stock
Verdünner	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml
Anzahl	n = 3	je n = 1	je n = 3	n = 1	n = 1

1) Vayamed 50/1 (THC 50 mg/ml; CBD  $\leq 1$  mg/ml)

Tabelle 3: Untersuchungslösungen für Prüfung der Selektivität

Probe	Reagenzien-Blank	MCT-Blank (Trägeröl)
$\Delta^9$ -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
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 50/1 (THC 50 mg/ml; CBD $\leq 1$ mg/ml)	Vayamed 50/1 (THC 50 mg/ml; CBD $\leq 1$ mg/ml)
$\Delta^9$ -THC -Gehalt	50 mg/ml	50 mg/ml
CBD-Gehalt	$\leq 1$ mg/ml	$\leq 1$ mg/ml
Probenvolumen	75 $\mu$ l	125 $\mu$ 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-Referenz			
Ergebnis:	CBD: negativ	THC: positiv	Validierung: bestanden
MCT-THC-Spike			
Ergebnis:	CBD: negativ		Validierung: bestanden
MCT-THC-Spike			
Ergebnis:		THC: positiv	Validierung: bestanden
Probe: Vayamed 50/1			
			
Ergebnis:	CBD: < 5 mg/ml		Validierung: bestanden
Anmerkung: Das Extrakt in der Verdünnerflasche war grünlich/bräunlich gefärbt. Ein violetter Farbton war visuell nicht wahrnehmbar.			
Probe: Vayamed 50/1			
			
Ergebnis:		THC: positiv	Validierung: bestanden
Robustness: Vayamed 50/1			
Ergebnis:	CBD: < 5 mg/ml		Validierung: bestanden
Robustness: Vayamed 50/1			
Ergebnis:		THC: positiv	Validierung: bestanden
Ende der Tabelle 5.			

#### 5 Bewertung

Der geprüfte CannaFIX-ID® THC/CBD Test ist zur Identifizierung von  $\Delta^9$ -THC in Vayamed 50/1 (THC 50 mg/ml; CBD  $\leq$  1 mg/ml) vollumfänglich geeignet. Die Prüfung der Abwesenheit von CBD wird durch die Eigenfarbe des Cannabisextraktes, welche die Lösung in der Verdünnerflasche grünlich/bräunlich färbt, erschwert. Die Evaluierungsexperimente für den CBD-Nachweis haben ergeben, dass eine Identifikation ab ca. 5 mg/ml in dem geprüften Produkt möglich wäre bzw., dass das Produkt ca. < 5 mg/ml CBD enthält. Eine Prüfung auf Abwesenheit auf CBD ist also nicht möglich, da die Produkteigenfärbung dies bei niedrigeren CBD-Konzentrationen verhindert. Hinsichtlich des untersuchten Produktes stellt dies jedoch kein Problem dar, da eine eindeutige Identifizierung von THC gewährleistet ist.

Der Nachweis von THC in  $\Delta^9$ -THC-haltigen Proben (Vayamed 50/1 (THC 50 mg/ml; CBD  $\leq$  1 mg/ml), Probe + CBD, THC-Spike, Robustness) gelingt einfach, sicher und schnell. Die tief-violette Farbe der entwickelten Ampullen ist absolut eindeutig für die Identifizierung von THC. Es wurden alle Akzeptanzkriterien des Validierungsplanes eingehalten. Das Verfahren ist für Vayamed 50/1 (THC 50 mg/ml; CBD  $\leq$  1 mg/ml) validiert.