

Kurzbericht Validierung

Identität von THC und CBD in

RE:CANNIS Extrakt 3/3

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 | 4 |
| 5.1 | Negativkontrollen | 4 |
| 5.2 | Dünnschichtchromatographie nach DAB..... | 4 |
| 6 | Robustheit | 5 |
| 7 | Zusammenfassung und Bewertung | 5 |

1 Vorbemerkung

Dieser Validierungsbericht beschreibt die Validierung einer Identitätsmethode zur Identifizierung von Δ^9 -THC und Cannabidiol (CBD) im RE:CANNIS Extrakt 3/3 gemäß ICH Q2(R1). Ziel der Validierung ist der Nachweis über die Eignung des CannaFix-ID® THC/CBD-Schnelltests zur Identifizierung von Δ^9 -THC und CBD im RE:CANNIS Extrakt 3/3. 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 3/3</u> Stufe 1: Violette Farbe → Identität CBD: Positiv Stufe 2: Braun → Identität THC: Positiv</p> <p><u>THC/CBD-Spike: (30 mg/ml THC, 30 mg/ml CBD in 1ml MCT-Öl)</u> Stufe 1: Violette Farbe → Identität CBD: Positiv Stufe 2: 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: Violett → 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><u>Probe: RE:CANNIS Extrakt 3/3 (n = 3)</u> Identität THC: Positiv Identität CBD: Positiv</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> |
| Spezifität der Methode | <p><u>Probe: RE:CANNIS Extrakt 3/3</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>MCT-Blank</u> MCT-Öl ohne CBD/THC) wird mit Verdünner (Stufe 1) und Farbreagenz (Stufe 2) geprüft. → keine Farbreaktion</p> | <p><u>Probe: RE:CANNIS Extrakt 3/3 (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> <p><u>MCT-Blank</u> Identität CBD: Negativ Identität THC: Negativ</p> |
| Robustheit | <p><u>Probe: RE:CANNIS Extrakt 3/3</u> Die Probenmenge ist zu variieren (Normal: 100 µl). Kleinere Probenmenge (75 µl) Größere Probenmenge (125 µl)</p> | <p><u>Probe: RE:CANNIS Extrakt 3/3 (je n = 1)</u> Identität CBD: Positiv Identität THC: Positiv</p> |

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: Untersuchungslösungen für die Eignungsprüfung der Methode

| Probe | RE:CANNIS Extrakt 3/3 | CBD/THC-Spike | THC-Spike | CBD-Spike | THC Vergleichs-lösung | CBD Referenz |
|-------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| Anzahl (n) | 3 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| Δ^9 -THC -Gehalt | 31,58 mg/ml* | 30 mg/ml | 30 mg/ml | 0 mg/ml | 30 mg/ml | 0 mg/ml |
| CBD-Gehalt | 31,58 mg/ml* | 30 mg/ml | 0 mg/ml | 30 mg/ml | 0 mg/ml | 30 mg/ml |
| Probenvolumen | 100 μ l |
| Verdünner | 2 ml |
| Akzeptanz-kriterium | THC: positiv CBD: positiv | THC: positiv CBD: positiv | THC: positiv CBD: negativ | THC: negativ CBD: positiv | THC: positiv CBD: negativ | THC: negativ CBD: positiv |
| Ergebnis | THC: positiv CBD: positiv | 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 3 % (m/m) entspricht THC 31,58 mg/ml und CBD 31,58 mg/ml.

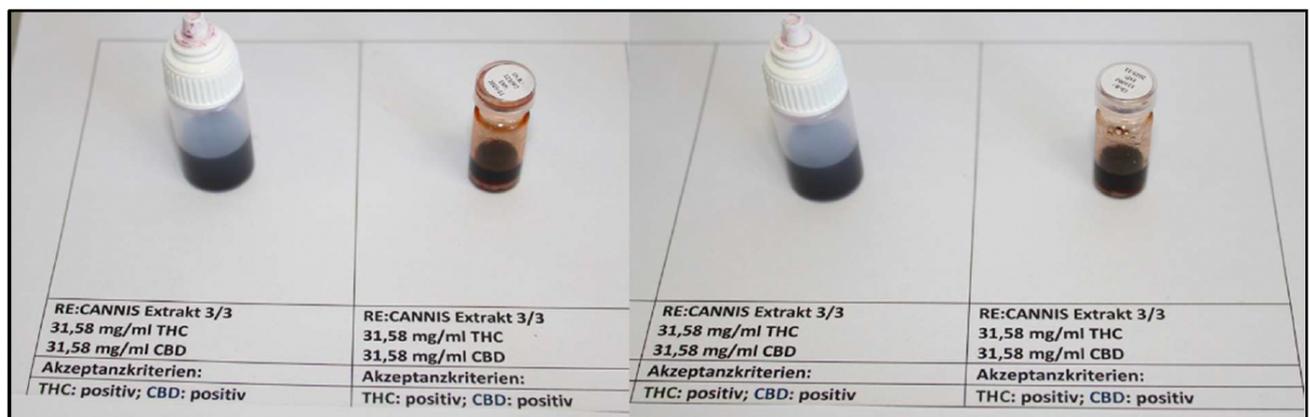


Abbildung 1: Fotos nach Durchführung des CannaFix-ID THC/CBD Schnelltests beim RE:CANNIS Extrakt 3/3

Der RE:CANNIS Extrakt 3/3 wies in der ersten Stufe des Farbttests, nach der Reaktion mit dem Verdünner, eine blau-violette Färbung auf. In der zweiten Stufe des Farbttests, nach der Reaktion des Verdünner-Extraktes mit der Farbreaenz und dem Entwickler, ergab sich ein brauner Farbumschlag. Die Farbumschläge aller weiteren untersuchten Substanzen entsprachen ebenfalls der Farbskala. Somit erfüllte der Test für den RE:CANNIS Extrakt 3/3, 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

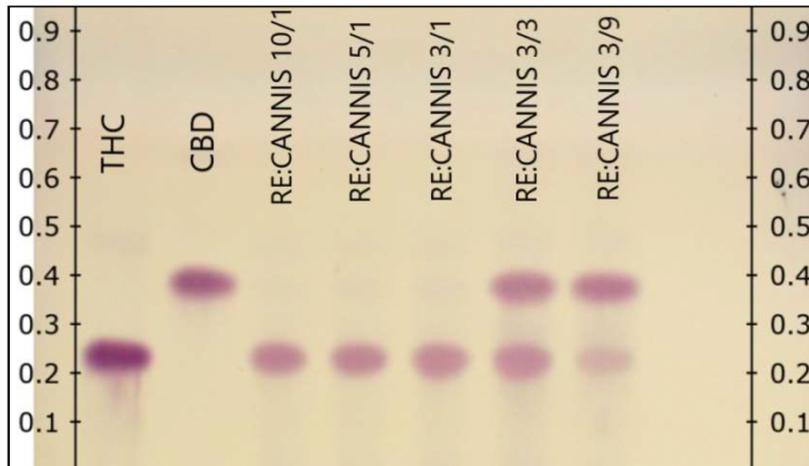


Abbildung 2: Auswertung der Dünnschichtchromatographie der RE:CANNIS Cannabisextrakte, sowie eines THC-Standards und eines CBD-Standards

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 3/3 | RE:CANNIS Extrakt 3/3 | RE:CANNIS Extrakt 3/3 |
|-----------------------------|--------------------------------------|--|--------------------------------------|
| Anzahl (n) | 1 | Die Ergebnisse der Eignungsprüfung gelten hier ebenfalls. 100 µl | 1 |
| Δ ⁹ -THC -Gehalt | 31,58 mg/ml | | 31,58 mg/ml |
| CBD-Gehalt | 31,58 mg/ml | | 31,58 mg/ml |
| Probenvolumen | 75 µl | | 125 µl |
| Verdünner | 2 ml | | 2 ml |
| Anzahl | n = 1 | | n = 1 |
| Akzeptanzkriterium | THC: positiv CBD: positiv | THC: positiv CBD: positiv | THC: positiv CBD: positiv |
| Ergebnis | THC: positiv CBD: positiv | THC: positiv CBD: positiv | THC: positiv CBD: positiv |

7 Zusammenfassung und Bewertung

Der CannaFix-ID THC/CBD Schnelltest wurde für die Bestimmung von THC und CBD im RE:CANNIS Extrakt 3/3 in vollem Umfang validiert. Bei den Validierungs-Parametern Eignungsprüfung der Identität, Spezifität und Robustheit wurden alle Akzeptanzkriterien erfüllt. Daher eignet sich der CannaFix-ID THC/CBD Schnelltest zur alternativen Identitätsfeststellung des RE:CANNIS Extrakt 3/3.