

Kurzbericht Validierung

Identität von THC und CBD in

Hormosan Cannabisextrakt THC25:CBD25

Mittels

Hormosan Quick-ID THC/CBD Schnelltest-Set

(basierend auf der CannaFix-ID® 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 Δ^9 -THC und Cannabidiol (CBD) in Hormosan Cannabisextrakt THC25_CBD25 gemäß ICH Q2(R1). Ziel der Validierung ist der Nachweis über die Eignung des Hormosan Quick-ID THC/CBD-Schnelltest-Sets zur Identifizierung von Δ^9 -THC und CBD im Hormosan Cannabisextrakt THC25_CBD25. Der verwendete Cannabis Extrakt ist in MCT-Öl eingestellt. Beim Testsystem handelt es sich um einen 2-stufigen Farbstest, 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	<u>Probe: Hormosan Cannabisextrakt THC25_CBD25</u> Stufe 1: Violette Farbe → Identität CBD: Positiv Stufe 2: Bei deutlichem Unterschied zwischen der Farbe der Probe und der Farbe der CBD-Referenz → Identität THC: Positiv <u>THC/CBD-Spike: (25 mg/ml THC, 25 mg/ml CBD in 1ml MCT-Öl)</u> Stufe 1: Violette Farbe → Identität CBD: Positiv Stufe 2: Bei deutlichem Unterschied zwischen der Farbe der Probe und der Farbe der CBD-Referenz → Identität THC: Positiv <u>CBD-Spike: CBD 25 mg/ml (in MCT)</u> Stufe 1: Violette Farbe → Identität CBD: Positiv Stufe 2: Farbe hat der Farbe der CBD-Referenz zu entsprechen. → Identität THC: Negativ <u>THC-Spike: Δ^9-THC 25 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 <u>CBD-Referenz: CBD 25 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. <u>THC-Referenz: Δ^9-THC 25 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	<u>Probe: Hormosan Cannabisextrakt THC25_CBD25 (n = 3)</u> Identität CBD: Positiv Identität THC: Positiv <u>THC/CBD-Spike (n = 1)</u> Identität THC: Positiv Identität CBD: Positiv <u>CBD-Spike (n = 1)</u> Identität THC: Negativ Identität CBD: Positiv <u>THC-Spike (n = 1)</u> Identität THC: Positiv Identität CBD: Negativ <u>CBD-Referenz (n = 1)</u> Identität THC: Negativ Identität CBD: Positiv <u>THC-Vergleichslösung (n = 1)</u> Identität THC: Positiv Identität CBD: Negativ
Spezifität der Methode	<u>Probe: Hormosan Cannabisextrakt THC25_CBD25</u> Dünnschichtchromatographie gemäß DAB-Monographie „Eingestellter Cannabisextrakt“ <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>Probe: Hormosan Cannabisextrakt THC25_CBD25 (je n = 1)</u> Identität identisch zu Quick-ID THC/CBD Schnelltest-Set <u>Reagenzien-Blank (je n = 1)</u> Identität CBD: Negativ Identität THC: Negativ <u>MCT-Blank</u> Identität CBD: Negativ Identität THC: Negativ

Parameter	Beschreibung und Erwartungswerte	Akzeptanzkriterien
Robustheit	<u>Probe: Hormosan Cannabisextrakt THC25 CBD25</u> Die Probenmenge ist zu variieren (Normal: 100 µl). Kleinere Probenmenge (75 µl) Größere Probenmenge (125 µl)	<u>Probe: Hormosan Cannabisextrakt THC25 CBD25 (je n = 1)</u> Identität CBD: Positiv 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 Cannabis-extrakt THC25_CBD25	CBD/THC-Spike-	THC-Spike	CBD-Spike	THC Vergleichs-lösung	CBD Referenz
Anzahl (n)	3	1	1	1	1	1
Δ ⁹ -THC -Gehalt	25 mg/ml	25 mg/ml	25 mg/ml	0 mg/ml	25 mg/ml	0 mg/ml
CBD-Gehalt	25 mg/ml	25 mg/ml	0 mg/ml	25 mg/ml	0 mg/ml	25 mg/ml
Probenvolumen	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl
Verdünner	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	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

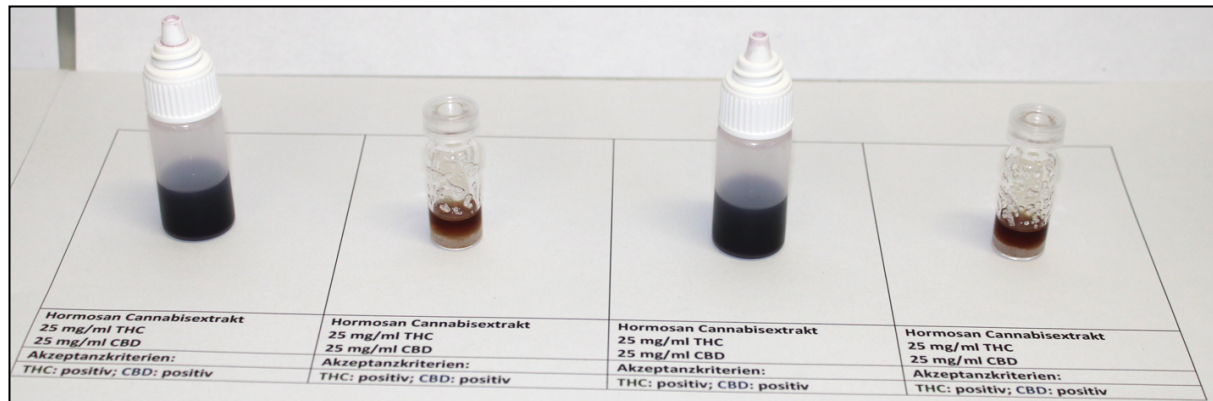


Abbildung 1: Fotos nach Durchführung des Hormosan Quick-ID THC/CBD Schnelltest-Sets beim Hormosan Cannabisextrakt THC25_CBD25

Das Hormosan Cannabisextrakt THC25_CBD25 wies in der ersten Stufe des Farbtests, nach der Reaktion mit dem Verdünner, eine deutliche violette Färbung auf. In der zweiten Stufe des Farbtests, nach der Reaktion des Verdünner-Extraktes mit der Farbreagenz und dem Entwickler, ergab sich ein brauner Farbumschlag. Die Farbumschläge aller weiteren untersuchten Substanzen entsprachen ebenfalls der Farbskala. Somit erfüllte der Test für den Hormosan Cannabisextrakt THC25_CBD25, 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

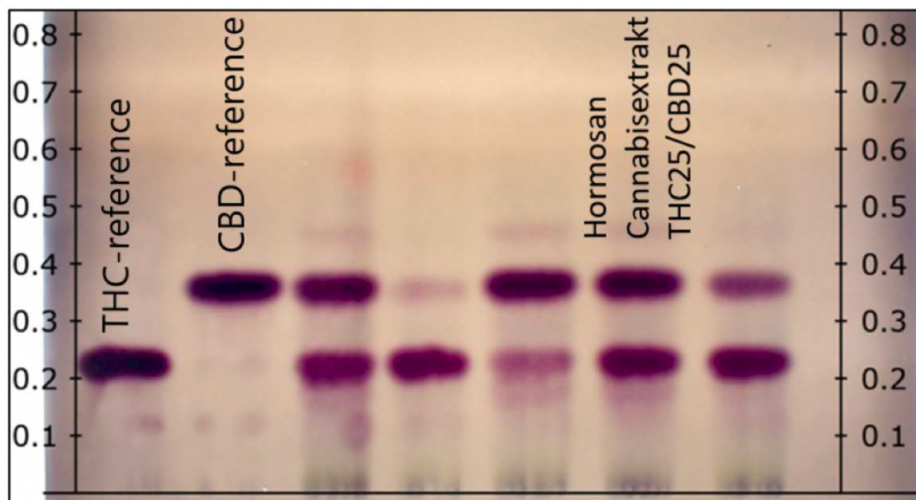


Abbildung 2: Auswertung der Dünnschichtchromatographie des Hormosan Cannabisextrakts THC25_CBD25 sowie eines THC-Standards und eines CBD-Standards

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 THC25_CBD25] Cannabisextrakt	[Hormosan THC25_CBD25] Cannabisextrakt	[Hormosan THC25_CBD25] Cannabisextrakt
Anzahl (n)	1	1	1
Δ^9 -THC -Gehalt	25 mg/ml	Die Ergebnisse der Eignungsprüfung gelten hier ebenfalls. 100 µl	25 mg/ml
CBD-Gehalt	25 mg/ml		25 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

Das Hormosan Quick-ID THC/CBD Schnelltest-Set wurde für die Bestimmung von THC und CBD im Hormosan Cannabisextrakt THC25_CBD25 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 THC25_CBD25.