

Kurzbericht Validierung

Identität von THC und CBD in

Cannabis Extrakt ACA 25/1 C

Mittels

CannaFix-ID[®] THC/CBD Schnelltest-Set

Inhaltsverzeichnis

1	Vorbemerkung	2
2	Akzeptanzkriterien und Prüfparameter	2
3	Methode	3
4	Eignungsprüfung Identität	3
5	Spezifität	4
6	Robustheit	5
7	Bewertung	6

1 Vorbemerkung

Dieser Validierungsbericht beschreibt die Validierung einer Identitätsmethode zur Identifizierung von Δ^9 -THC in Cannabis Extrakt ACA 25/1 C gemäß ICH Q2(R1). Ziel der Validierung war der Nachweis über die Eignung des CannaFix-ID® THC/CBD-Schnelltests zur Identifizierung von Δ^9 -THC und CBD im Cannabis Extrakt ACA 25/1 C. Der verwendete Cannabisextrakt 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: Übersicht: Studienumfang, Prüfparameter und Akzeptanzkriterien

Parameter	Beschreibung und Erwartungswerte	Akzeptanzkriterien
Eignungsprüfung der Methode: Identität, Δ^9 -THC / CBD	<p><u>Probe: Cannabis Extrakt ACA 25/1 C</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>THC-/CBD-Spike: 25mg/ml THC, 25 mg/ml CBD in 1 ml 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</p> <p><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</p> <p><u>CBD-Spike: CBD 25 mg/ml (in MCT)</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>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.</p> <p><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</p> <p><u>Spike-Proben (+CBD)</u> Probe THC25: CBD $\leq 1 + 0$ mg/ml CBD ($\sum \leq 1$ mg/ml CBD) Probe THC25: CBD $\leq 1 + 1$ mg/ml CBD ($\sum \leq 2$ mg/ml CBD) Probe THC25: CBD $\leq 1 + 2$ mg/ml CBD ($\sum \leq 3$ mg/ml CBD) Probe THC25: CBD $\leq 1 + 3$ mg/ml CBD ($\sum \leq 4$ mg/ml CBD) Probe THC25: CBD $\leq 1 + 4$ mg/ml CBD ($\sum \leq 5$ mg/ml CBD)</p>	<p><u>Probe: Cannabis Extrakt ACA 25/1 C (n = 3)</u> Identität CBD: Negativ Identität THC: Positiv</p> <p><u>THC-/CBD-Spike (n = 3)</u> Identität CBD: Positiv Identität THC: Positiv</p> <p><u>THC-Spike (n = 1)</u> Identität CBD: Negativ Identität THC: Positiv</p> <p><u>CBD-Spike (n = 1)</u> Identität CBD: Positiv Identität THC: Negativ</p> <p><u>CBD-Referenz (n = 1)</u> Identität CBD: Positiv Identität THC: Negativ</p> <p><u>THC-Vergleichslösung (n = 1)</u> Identität CBD: Negativ Identität THC: Positiv</p> <p><u>Spike-Proben (+CBD) je n=1</u> Identität CBD: Negativ/Positiv ¹⁾ Identität THC: Positiv</p> <p>1) Evaluierung der Nachweisgrenze von CBD</p>

Parameter	Beschreibung und Erwartungswerte	Akzeptanzkriterien
Spezifität der Methode	<p><u>Probe: Cannabis Extrakt ACA 25/1 C</u> Dünnschichtchromatographie gemäß DAB-Monographie „Eingestellter Cannabisextrakt“</p> <p><u>Reagenzien-Blank</u> Verdünner wird mit Farbreagenz gemischt und entwickelt.</p> <p><u>MCT-Blank</u> MCT-Öl ohne CBD/THC wird mit Verdünner (Stufe 1) und Farbreagenz (Stufe 2) geprüft.</p>	<p><u>Probe: Cannabis Extrakt ACA 25/1 C (je n = 1)</u> Identität identisch zu CannaFix-ID THC/CBD Schnelltest-Set</p> <p><u>Reagenzien-Blank (n = 1)</u> Identität CBD: Negativ Identität THC: Negativ</p> <p><u>MCT-Blank (n=1)</u> Identität CBD: Negativ Identität THC: Negativ</p>
Robustheit	<p><u>Probe: Cannabis Extrakt ACA 25/1 C</u> Die Probenmenge ist zu variieren (Normal: 100 µl). Kleinere Probenmenge (75 µl) Größere Probenmenge (125 µl)</p>	<p><u>Probe: Cannabis Extrakt ACA 25/1 C (je n = 1)</u> Identität THC: Positiv Identität CBD: Negativ</p>

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.

4 Eignungsprüfung Identität

Tabelle 2: Konzentrationen für die Bestimmung der Identität

Probe	Cannabis Extrakt ACA 25/1	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	< 1 mg/ml	25 mg/ml	0 mg/ml	25 mg/ml	0 mg/ml	25 mg/ml
Probenvolumen	100 µl					
Verdünner	2 ml					
Akzeptanz-kriterium	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

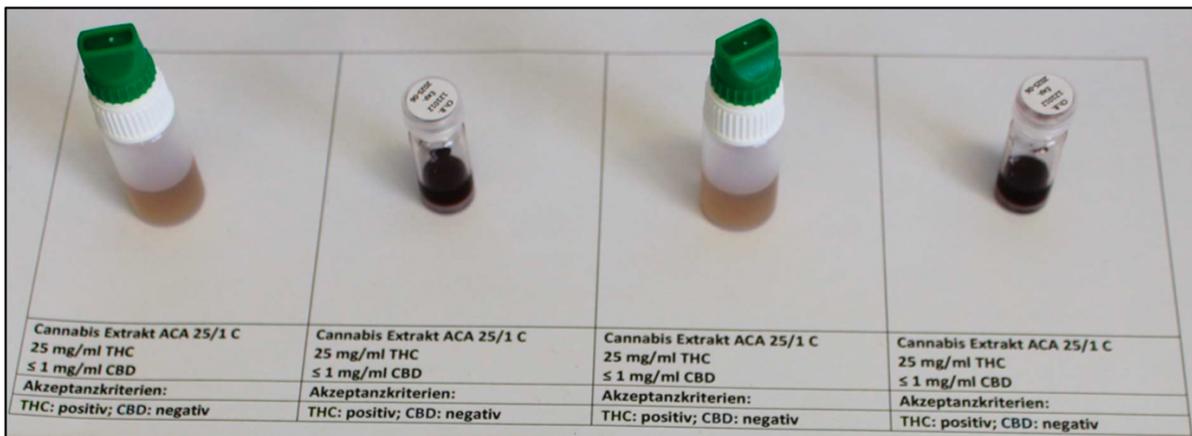


Abbildung 1: Fotos nach Durchführung des CannaFix-ID THC/CBD Schnelltests beim Cannabis Extrakt ACA 25/1

Der Cannabis Extrakt ACA 25/1 wies in der ersten Stufe des Farbtests, nach der Reaktion mit dem Verdünner, eine schwache Färbung auf. In der zweiten Stufe des Farbtests, nach der Reaktion des Verdünner-Extraktes mit der Farbreaenz und dem Entwickler, ergab sich ein tief-violetter Farbumschlag. Die Farbumschläge aller weiteren untersuchten Substanzen entsprachen ebenfalls der Farbskala. Somit erfüllte der Test für den Cannabis Extrakt ACA 25/1, 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 µl	-
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

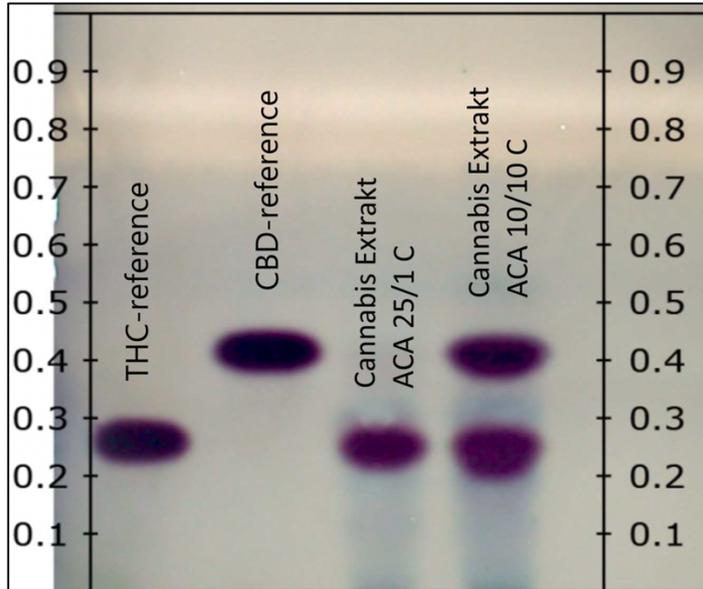


Abbildung 2: Auswertung der Dünnschichtchromatographie der ACA Müller Cannabisextrakte, sowie eines THC-Standards und eines CBD-Standards

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	Cannabis Extrakt ACA 25/1 C	Cannabis Extrakt ACA 25/1 C	Cannabis Extrakt ACA 25/1 C
Anzahl (n)	1		1
Δ^9 -THC -Gehalt	25 mg/ml	Die Ergebnisse der Eignungsprüfung gelten. 100 μl	25 mg/ml
CBD-Gehalt	< 1 mg/ml		< 1 mg/ml
Probenvolumen	75 μl		125 μl
Verdünner	2 ml		2 ml
Akzeptanzkriterium	THC: positiv CBD: negativ	THC: positiv CBD: negativ	THC: positiv CBD: negativ
Ergebnis	THC: positiv CBD: negativ	THC: positiv CBD: negativ	THC: positiv CBD: negativ

7 Bewertung

Der CannaFix-ID THC/CBD Schnelltest wurde für die Bestimmung von THC und CBD im Cannabis Extrakt ACA 25/1 in vollem Umfang validiert. Bei den Validierungsparametern Eignungsprüfung der Identität, Spezifität und Robustheit wurden alle Akzeptanzkriterien erfüllt. Daher eignet sich der CannaFix-ID THC/CBD Schnelltest zur alternativen Identitätsfeststellung des Cannabis Extrakt ACA 25/1.