

Kurzbericht Validierung

(VR-21-085-V1)

Identität von THC und CBD in

DEMECAN 30:01 OKTONIA
(THC 30 mg/ml; CBD $\leq$ 1 mg/ml)

Mittels

CannaFix-ID[®] 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 Δ^9 -THC in DEMECAN 30:01 OKTONIA (Cannabisextrakt mit 30 mg/ml Δ^9 -THC und ≤ 1 mg/ml CBD) 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 in DEMECAN 30:01 OKTONIA (THC 30 mg/ml; CBD ≤ 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 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	<u>Probe: DEMECAN OktoniaTHC30:CBD ≤ 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	<u>Probe: THC30:CBD ≤ 1 (n = 3)</u> Identität CBD: Negativ Identität THC: Positiv
	<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.	<u>CBD-Referenz (n = 1)</u> Identität CBD: Positiv
	<u>THC-Referenz: THC 30 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>THC-Referenz (n = 1)</u> Identität CBD: Negativ Identität THC: Positiv
	<u>MCT-THC-Spike: THC 30 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	<u>MCT-THC-Spike (n = 3):</u> Identität CBD: Negativ Identität THC: Positiv
	<u>Spike-Proben (+ CBD)</u> Probe THC30:CBD $\leq 1 + 0$ mg/ml CBD ($\Sigma \leq 1$ mg/ml CBD) Probe THC30:CBD $\leq 1 + 1$ mg/ml CBD ($\Sigma \leq 2$ mg/ml CBD) Probe THC30:CBD $\leq 1 + 2$ mg/ml CBD ($\Sigma \leq 3$ mg/ml CBD) Probe THC30:CBD $\leq 1 + 3$ mg/ml CBD ($\Sigma \leq 4$ mg/ml CBD) Probe THC30:CBD $\leq 1 + 4$ mg/ml CBD ($\Sigma \leq 5$ mg/ml CBD)	<u>Spike-Proben (+ CBD) je n = 1</u> Identität CBD: Negativ/Positiv ¹⁾ Identität THC: Positiv
	Stufe 1: keine Farbe → Identität CBD: Negativ ¹⁾ Stufe 1: violette Farbe → Identität CBD: Positiv ¹⁾ Stufe 2: Bei deutlichem Unterschied zwischen der Farbe der Spike-Probe und der Farbe der CBD-Referenz → Identität THC: Positiv 1) Es ist die Konzentration an CBD zu evaluieren, ab welcher die Identität von CBD nachweisbar ist.	1) Evaluierung der Nachweisgrenze von CBD.

Parameter	Beschreibung und Erwartungswerte	Akzeptanzkriterien
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: DEMECAN Oktonia THC30:CBD ≤ 1</u> Die Probenmenge ist zu variieren (Normal: 100 µl). Kleinere Probenmenge (75 µl) Größere Probenmenge (125 µl)	<u>Probe: THC30:CBD ≤ 1 (je n = 1)</u> Identität CBD: Negativ

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	DEMECAN 30:01 ¹⁾	Spike-Proben (+ CBD)	MCT-THC-Spike	CBD Referenz	THC-Referenz
Δ^9 -THC -Gehalt	30 mg/ml	30 mg/ml	30 mg/ml	0 mg/ml	30 mg/ml
CBD-Gehalt	≤ 1 mg/ml	≤ 1 mg/ml ≤ 2 mg/ml ≤ 3 mg/ml ≤ 4 mg/ml ≤ 5 mg/ml	0 mg/ml	5 mg/ml	0 mg/ml
Probenvolumen	100 μ l	100 μ l Probe ¹⁾ je 100 μ l CBD-Ref-0 bis -4	100 μ l THC-Stock 100 μ l MCT-Öl	100 μ l CBD-Ref-5	100 μ 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) DEMECAN 30:01 OKTONIA (THC 30 mg/ml; CBD ≤ 1 mg/ml)					

Tabelle 3: Untersuchungslösungen für Prüfung der Selektivität

Probe	Reagenzien-Blank	MCT-Blank (Trägeröl)
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
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.

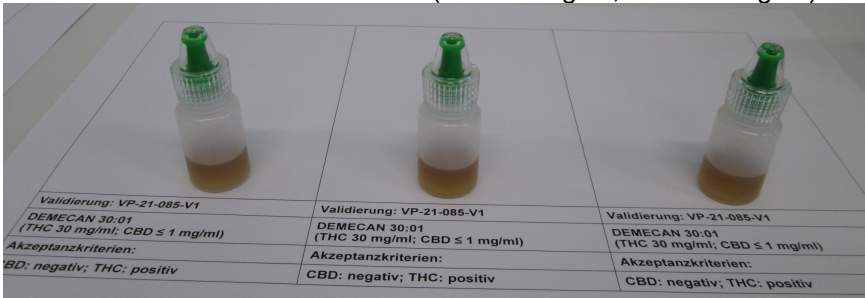
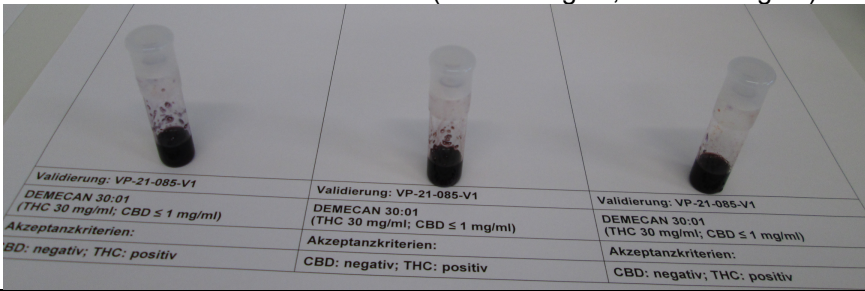
Tabelle 4: Methoden-Robustheit (Probenvolumen)

Probe	DEMECAN 30:01 OKTONIA (THC 30 mg/ml; CBD ≤ 1 mg/ml)	DEMECAN 30:01 OKTONIA (THC 30 mg/ml; CBD ≤ 1 mg/ml)
Δ^9 -THC -Gehalt	30 mg/ml	30 mg/ml
CBD-Gehalt	≤ 1 mg/ml	≤ 1 mg/ml
Probenvolumen	75 μ l	125 μ 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: DEMECAN 30:01 OKTONIA (THC 30 mg/ml; CBD ≤ 1 mg/ml)			
			
Ergebnis:	CBD: < 5 mg/ml		Validierung: bestanden
Anmerkung: Das Extrakt in der Verdünnerflasche war gelb-bräunlich gefärbt. Ein violetter Farbton war visuell nicht wahrnehmbar.			
Probe: DEMECAN 30:01 OKTONIA (THC 30 mg/ml; CBD ≤ 1 mg/ml)			
			
Ergebnis:		THC: positiv	Validierung: bestanden
Spike-Proben (DEMECAN 30:01 OKTONIA (THC 30 mg/ml; CBD ≤ 1 mg/ml):			
Ergebnis:	CBD: ab Stufe ≤ 5 mg/ml		Validierung: bestanden
Spike-Proben (DEMECAN 30:01 OKTONIA (THC 30 mg/ml; CBD ≤ 1 mg/ml):			
Ergebnis:		THC: positiv	Validierung: bestanden
Robustness: DEMECAN 30:01 OKTONIA (THC 30 mg/ml; CBD ≤ 1 mg/ml)			
Ergebnis:	CBD: < 5 mg/ml		Validierung: bestanden
Robustness: DEMECAN 30:01 OKTONIA (THC 30 mg/ml; CBD ≤ 1 mg/ml)			
Ergebnis:		THC: positiv	Validierung: bestanden
Ende der Tabelle 5.			

5 Bewertung

Der geprüfte CannaFIX-ID® THC/CBD Test ist zur Identifizierung von Δ^9 -THC in DEMECAN 30:01 OKTONIA (THC 30 mg/ml; CBD ≤ 1 mg/ml) vollumfänglich geeignet. Die Prüfung der Abwesenheit von CBD wird durch die Eigenfarbe des Cannabisextraktes, welche die Lösung in der Verdünnerflasche gelb 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.

Der Nachweis von THC in Δ^9 -THC-haltigen Proben (DEMECAN 30:01 OKTONIA (THC 30 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 DEMECAN 30:01 OKTONIA (THC 30 mg/ml; CBD $\leq$ 1 mg/ml) validiert.