Kurzbericht Validierung

Identität von THC und CBD in

Hormosan Cannabisextrakt THC5:CBD20

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 THC5_CBD20 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 Cannabisextrakt THC5_CBD20. 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	Probe: Hormosan Cannabisextrakt THC5_CBD20 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 THC/CBD-Spike: (5 mg/ml THC, 20 mg/ml CBD in 1ml MCT-Öl) 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 CBD-Spike: CBD 5 mg/ml (in MCT) Stufe 1: Violette Farbe ➔ Identität CBD: Positiv Stufe 2: Farbe hat der Farbe der CBD-Referenz zu entsprechen. ➔ Identität THC: Negativ THC-Spike: Δ^9-THC 20 mg/ml (in MCT) 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 CBD-Referenz: CBD 5 mg/ml (in 2-Propanol) Stufe 1: Violette Farbe ➔ Identität CBD: Positiv Stufe 2: Farbe dient als Referenz zur Beurteilung der Probe, der Spike-Proben und der THC-Referenz. THC-Referenz: Δ^9-THC 20 mg/ml (in 2-Propanol) 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	Probe: Hormosan Cannabisextrakt THC5_CBD20 (n = 3) Identität CBD: Positiv Identität THC: Positiv THC/CBD-Spike (n = 1) Identität THC: Positiv Identität CBD: Positiv CBD-Spike (n = 1) Identität THC: Negativ Identität CBD: Positiv THC-Spike (n = 1) Identität THC: Positiv Identität CBD: Negativ CBD-Referenz (n = 1) Identität THC: Negativ Identität CBD: Positiv THC-Vergleichslösung (n = 1) Identität THC: Positiv Identität CBD: Negativ
Spezifität der Methode	Probe: Hormosan Cannabisextrakt THC5_CBD20 Dünnschichtchromatographie gemäß DAB-Monographie „Eingestellter Cannabisextrakt“ Reagenzien-Blank Verdünner wird mit Farbreagenz gemischt und entwickelt.	Probe: Hormosan Cannabisextrakt THC5_CBD20 (je n = 1) Identität identisch zu Quick-ID THC/CBD Schnelltest-Set Reagenzien-Blank (je n = 1) Identität CBD: Negativ Identität THC: Negativ

Parameter	Beschreibung und Erwartungswerte	Akzeptanzkriterien
	MCT-Blank MCT-Öl ohne CBD/THC) wird mit Verdünner (Stufe 1) und Farbreagenz (Stufe 2) geprüft.	MCT-Blank Identität CBD: Negativ Identität THC: Negativ
Robustheit	Probe: Hormosan Cannabisextrakt THC5_CBD20 Die Probenmenge ist zu variieren (Normal: 100 µl). Kleinere Probenmenge (75 µl) Größere Probenmenge (125 µl)	Probe: Hormosan Cannabisextrakt THC5_CBD20 (je n = 1) 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 THC5_CBD20	CBD/THC-Spike-	THC-Spike	CBD-Spike	THC Vergleichs-lösung	CBD Referenz
Anzahl (n)	**3**	**1**	**1**	**1**	**1**	**1**
Δ^9-THC -Gehalt	5 mg/ml	5 mg/ml	5 mg/ml	0 mg/ml	5 mg/ml	0 mg/ml
CBD-Gehalt	20 mg/ml	20 mg/ml	0 mg/ml	20 mg/ml	0 mg/ml	20 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**

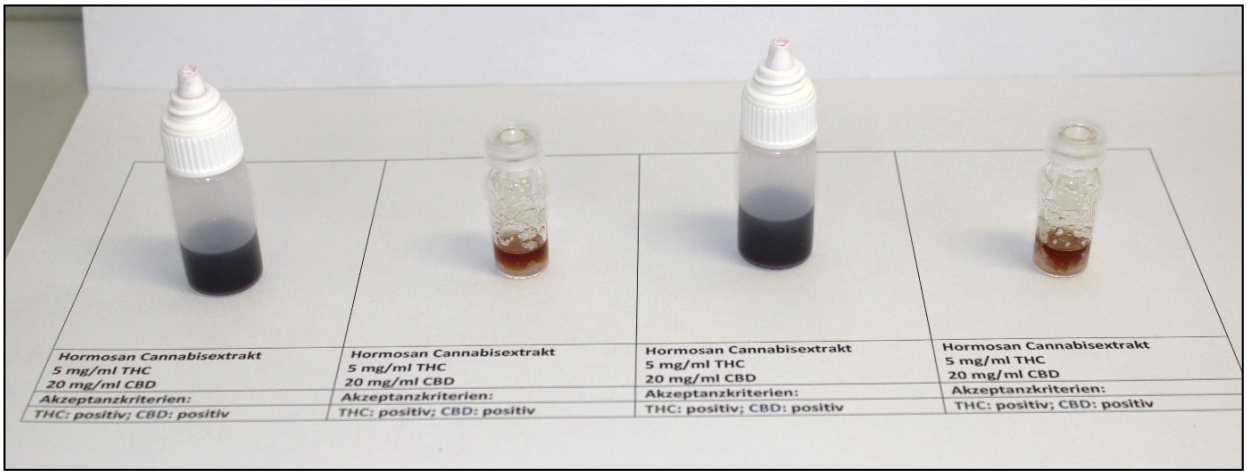

Abbildung 1: Fotos nach Durchführung des Hormosan Quick-ID THC/CBD Schnelltest-Sets beim Hormosan Cannabisextrakt THC5_CBD20

Das Hormosan Cannabisextrakt THC5_CBD20 wies in der ersten Stufe des Farbtests, nach der Reaktion mit dem Verdünner, eine blau-violette Färbung auf. In der zweiten Stufe des Farbtests, nach der Reaktion des Verdünner-Extraktes mit der Farbreagenz und dem Entwickler, ergab sich ein braun-oranger Farbumschlag. Die Farbumschläge aller weiteren untersuchten Substanzen entsprachen ebenfalls der Farbskala. Somit erfüllte der Test für den Hormosan Cannabisextrakt THC5_CBD20, 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

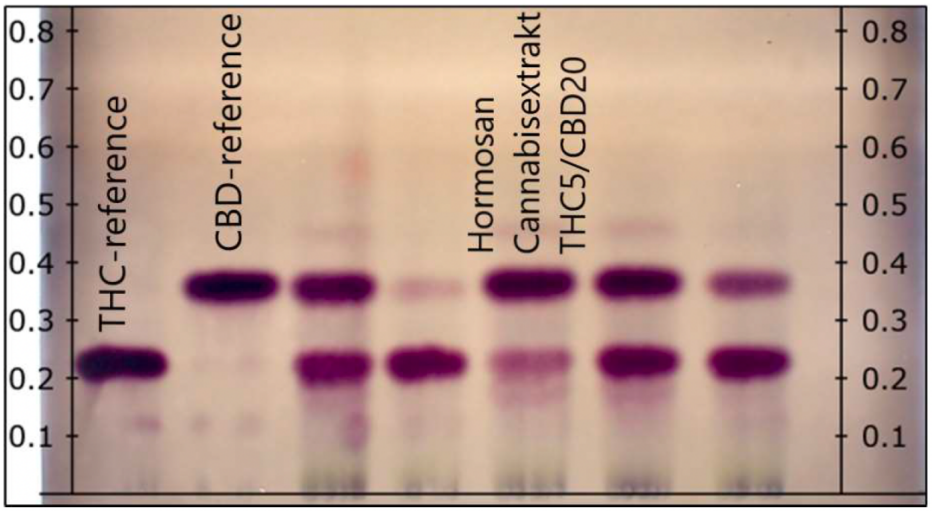

Abbildung 2: Auswertung der Dünnschichtchromatographie des Hormosan Cannabisextrakts THC5_CBD20 sowie eines THC-Standards und eines CBD-Standards

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 THC5_CBD20] Cannabisextrakt**	**[Hormosan THC5_CBD20] Cannabisextrakt**	**[Hormosan THC5_CBD20] Cannabisextrakt**
Anzahl (n)	**1**		**1**
Δ^9-THC -Gehalt	5 mg/ml	Die Ergebnisse der Eignungsprüfung gelten hier ebenfalls. **100 µl**	5 mg/ml
CBD-Gehalt	20 mg/ml		20 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 THC5_CBD20 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 THC5_CBD20.