



Prüfung von standardisiertem, öligem Cannabis-Extrakt mit THC 50 mg/ml und CBD 50 mg/ml

Prüfprotokoll nach § 11 in Verbindung mit § 6 ApBetrO

Allgemeiner Hinweis

Zur Herstellung von Arzneimitteln dürfen nur Ausgangsstoffe verwendet werden, deren ordnungsgemäße Qualität festgestellt ist. Auch in Filialverbünden muss die Prüfung der Ausgangsstoffe stets in der Betriebsstätte erfolgen, in der sie verarbeitet werden. Die Dokumentation ist vollständig und mindestens bis 1 Jahr nach Ablauf des Verfalldatums, jedoch nicht weniger als fünf Jahre aufzubewahren (§ 22 (1) ApBetrO).

Chargendaten

Hersteller/Lieferant	Panaxia Pharmaceutical Industries Ltd. neuraxpharm Arzneimittel GmbH
Liefermenge	30 ml
Lieferdatum	
Chargenbezeichnung	
Verwendbar bis	
Prüfdatum	
Prüfende Person (PTA oder Apotheker/in)	

Eigenschaften

Eine Überprüfung der Eigenschaften ist nicht zwingend erforderlich, eine organoleptische Prüfung des Aussehens dennoch empfohlen.

Eigenschaften	Prüfergebnis
Aussehen: Homogene, grünliche oder gelbe bis braune Flüssigkeit, ohne signifikanten Niederschlag	
Löslichkeit: praktisch unlöslich in Wasser, mischbar mit Dichlormethan, mit Ethanol 96 %, mit Petrolether und mit fetten Ölen	



Kontrolle des Prüfzertifikats

Hinweis: Das Prüfzertifikat ist zusammen mit diesem Prüfprotokoll aufzubewahren.

Auf dem Zertifikat muss vermerkt sein:	Prüfergebnis
Das Prüfzertifikat enthält mindestens folgende Angaben: • Bezeichnung des Ausgangsstoffs • Angewandte Prüfvorschrift (der Prüfung nach anerkannten pharmazeutischen Regeln) • Chargenbezeichnung oder Herstellungsdatum • Hersteller • Prüfergebnisse und Angaben der erforderlichen Qualität • Datum der Prüfung • Name des für die Prüfung Verantwortlichen	
Reinheit: • Cadmium: Höchstens 1,0 ppm • Blei: Höchstens 5,0 ppm • Quecksilber: Höchstens 0,1 ppm • Aflatoxin B1: Höchstens 2 µg/kg • Gesamtaflatoxine (B1,B2,G1,G2): Höchstens 4 µg/kg • Mikrobielle Verunreinigung: ○ TAMC: Höchstens 10⁴ KBE je Milliliter ○ TYMC: Höchstens 10² KBE je Milliliter ○ Galletolerante Gram-negative Bakterien: Höchstens 10² KBE je Milliliter ○ Abwesenheit von Escherichia coli (in 1 ml) ○ Abwesenheit von Salmonellen (in 25 ml) • Cannabinol: Höchstens 2,5 % (m/m) • Restlösemittel Ethanol: Höchstens 5.000 ppm • Wassergehalt: Höchstens 0,5%	
Gehalt: • Mindestens 0,4 % Vitamin E • 4,95 bis 5,47 % (m/m) Δ⁹-Tetrahydrocannabinol • 4,95 bis 5,47 % (m/m) Cannabidiol	

Identitätsprüfung

Wenn ein gültiges Prüfzertifikat vorliegt, muss lediglich die Identität festgestellt werden. Für die Identifizierung stehen verschiedene Prüfvarianten zur Verfügung. Um der jeweiligen Prüfmonographie zu entsprechen, müssen alle unter der jeweiligen Variante gelisteten Nachweise durchgeführt werden. Im Zweifelsfall stimmen Sie bitte mit der zuständigen Überwachungsbehörde ab, welche der genannten Prüfungen als ausreichend angesehen werden können.



Prüfvariante 1: Immunochromatographischer Schnelltest und Farbreaktion (Beam-Test)

Immunochromatographischer Schnelltest (Prüfung auf Vorhandensein von THC)

Herstellung der Prüflösung:

1. Mithilfe einer 1-ml-Pasteur-Kunststoffpipette etwa 0,5 ml Ethanol 96% *R* in ein 15-ml-Röhrchen pipettieren und selbiges verschließen.
2. Mithilfe einer 1-ml-Spritze etwa 0,05 ml des zu testenden Extrakts in ein Eppendorf-Röhrchen überführen.
3. Mithilfe des mitgelieferten 10-µl-Kapillarröhrchens 10 µl des Extrakts aus dem Eppendorf-Röhrchen entnehmen, indem es bis zur schwarzen Markierungslinie befüllt wird. Den Inhalt des Kapillarröhrchens vollständig in das 15-ml-Röhrchen mit dem vorgelegten Ethanol 96% *R* entleeren.
4. Das 15-ml-Röhrchen bis zur Marke von 5 ml mit gereinigtem Wasser auffüllen. Das Röhrchen anschließend wieder verschließen und ca. 30 Sekunden lang gut schütteln (= Prüflösung).

Etwa 1 ml der Prüflösung in ein sauberes Eppendorf-Röhrchen überführen.

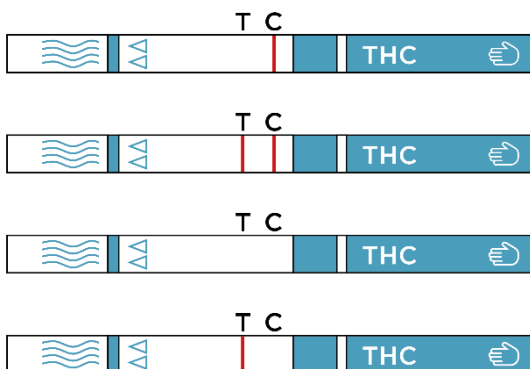
Durchführung des Schnelltests:

Achtung: Für die Durchführung des Tests müssen Prüflösung und Teststreifen eine Temperatur zwischen 15 und 30°C haben.

Der Teststreifen wird unmittelbar vor dem Einsatz aus dem versiegelten Beutel entnommen und zeitnah verwendet (Achtung: Keine Folie des Teststreifens entfernen!). Der Teststreifen wird mindestens 10-15 Sekunden, mit den Pfeilen nach unten zeigend, senkrecht in das Eppendorf-Röhrchen mit der Prüflösung gehalten. Dabei darf der Flüssigkeitsspiegel der Prüflösung die Maximum-Linie des Teststreifens nicht überschreiten. Anschließend wird der Teststreifen auf eine nicht saugfähige ebene Fläche gelegt, bis zum Erscheinen der roten Linie(n) gewartet und das Ergebnis nach 5 Minuten abgelesen.

Achtung: Nach mehr als 10 Minuten darf das Ergebnis nicht mehr ausgewertet werden!

Auswertung:



Positives Ergebnis: Eine rote Linie erscheint im Kontrollbereich (C). Im Testbereich (T) erscheint reaktionsbedingt keine Linie.

Negatives Ergebnis: Zwei Linien erscheinen. Eine rote Linie erscheint im Kontrollbereich (C) und eine rote Linie erscheint im Testbereich (T).

Ungültiges Ergebnis: Es erscheint überhaupt keine Linie oder nur im Testbereich (T). In beiden Fällen muss der Test wiederholt werden.



Immunochromatographischer Schnelltest	Prüfergebnis
Auswertung des immunochromatographischen Schnelltests Sollergebnis: Eine rote Linie im Kontrollbereich (C), keine im Testbereich (T).	

Farbreaktion (Beam-Test, Prüfung auf Vorhandensein von CBD)

1. Mithilfe einer 1-ml-Spritze werden etwa 0,05 ml des zu testenden Extrakts in das mitgelieferte 15-ml-Röhrchen überführt.
2. Mithilfe einer 1-ml-Pasteur-Kunststoffpipette werden 5 Tropfen der mitgelieferten, ethanolischen Kaliumhydroxid-Lösung (die Lösung ist farblos bis leicht gelb) auf den vorgelegten Extrakt in das 15 ml-Röhrchen pipettiert. Anschließend wird das Röhrchen geschwenkt, bis die Lösung homogen ist.
3. Das Röhrchen nach ca. 10 Minuten so kippen, dass die Lösung die gesamte Innenwand benetzt. Die Farbe der an der Innenwand anhaftenden Flüssigkeit wird gegen einen weißen Hintergrund beurteilt. Eine hell- bis dunkelbraune Färbung ist als negatives, eine (dunkel)violette Färbung als positives Ergebnis zu werten.

Beam-Test	Prüfergebnis
Farbreaktion Sollergebnis: Innerhalb von 10 Minuten ist eine (dunkel)violette Färbung zu beobachten	

Prüfvariante 2: Dünnschichtchromatographie

Die Prüfung erfolgt mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie (DAC-Probe 11).

Prüflösung: Möglichst exakt 200 mg $\pm$ 20 mg Substanz in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen einwiegen, bis zur 10-ml-Markierung Ethanol 96% R zugeben, das Röhrchen verschließen und kräftig schütteln, bis die Lösung homogen ist.

Referenzlösung 1: 1 mg/ml Δ^9 -Tetrahydrocannabinol (=THC)-Standardlösung (erhältlich beispielsweise von THC Pharm GmbH, Frankfurt am Main).

Referenzlösung 2: 0,5 mg/ml Δ^9 -Tetrahydrocannabinol (=THC)-Lösung, hergestellt durch Verdünnung von 1 mg/ml Δ^9 -Tetrahydrocannabinol (=THC)-Standardlösung (Referenzlösung 1) mit Methanol R. Hierzu können beispielsweise mithilfe einer Mikropipette 300 μ l der Lösung "1 mg/ml Delta-9-THC in Methanol", erhältlich von THC Pharm GmbH, Frankfurt am Main, mit 300 μ l Methanol R verdünnt werden.

Die Testlösung wird mit beiden Referenzlösungen verglichen (ca. 5 μ l von jeder Prüf- bzw. Referenzlösung auf die DC-Platte auftragen).

(Alternativ kann ein chromatographischer Direktvergleich mit authentischer Substanz erfolgen, die analog zur Prüflösung gelöst wurde.)

Untersuchungsbedingungen:

Stationäre Phase: HPTLC Kieselgel 60 F254S

Fließmittel: Mischung aus 20 Volumenteilen Dichlormethan R und 5 Volumenteilen n-Hexan R.

Entwicklung: mit Kammersättigung

Laufstrecke: ca. 5,5 cm



Detektion:

In ein 200-ml-Schraubdeckelglas, dessen Öffnungsdurchmesser mindestens der Breite der HPTLC-Platte entspricht, werden 35 g gepulvertes Kieselgel sowie einige Iod-Kristalle gegeben. Danach wird das Schraubdeckelglas verschlossen und der Inhalt durch leichtes Schütteln gemischt.

Die luftgetrocknete Platte wird mithilfe einer Pinzette in das Schraubdeckelglas gesteckt und den Ioddämpfen in dem verschlossenen Gefäß so lange ausgesetzt, bis die Flecken deutlich gelblich-braun gefärbt sind (mindestens 3 Minuten). Danach wird die Platte wieder aus dem Schraubdeckelglas entnommen. Zur Dokumentation werden die Flecke 5 bis 7 Minuten nach der Entnahme der Platte mit einem weichen Bleistift markiert bzw. fotografiert.

Auswertung:

Der R_f -Wert des THC-Standards muss zwischen 0,45 und 0,65 liegen, andernfalls ist die Dünnschichtchromatographie zu wiederholen. Für die Flecken der Prüflösung werden relative RR_f -Werte in Bezug auf den THC-Standard errechnet:

$$RR_f = \frac{R_f \text{ des Prüflösungsflecks}}{R_f \text{ des THC - Standards}}$$

Die Flecke der Prüflösung werden über die folgenden Relativen R_f -Werte (RR_f) identifiziert:

Cannabinoid	RR_f in Bezug auf den THC-Standard
THC	$1,0 \pm 0,05$
CBD	$1,1 \pm 0,05$

Die Identität des Extrakts entspricht, wenn beide Hauptcannabinoide (THC und CBD) anhand der vorgenannten RR_f -Werte in Bezug auf die Referenzlösung 1 (THC 1 mg/ml) identifiziert werden konnten.

Dünnschichtchromatographie	Prüfergebnis
Sollergebnis: THC wird über seinen Relativen R_f-Wert (RR_f) von $1,0 \pm 0,05$ und CBD über seinen Relativen R_f-Wert (RR_f) von $1,1 \pm 0,05$ in Bezug auf Referenzlösung 1 mit 1 mg/ml THC identifiziert. Die Farbintensität des THC- bzw. CBD-Flecks der Prüflösung sollte der Farbintensität des THC-Flecks in Referenzlösung 1 entsprechen. Diese Flecken dürfen sich voneinander weniger unterscheiden als die THC-Flecke der beiden Referenzlösungen (THC 1 mg/ml vs. 0,5 mg/ml). Alternativ: Bei einem chromatographischen Direktvergleich mit authentischer Substanz entsprechen die Hauptflecken der Prüflösung in Farbintensität und Lage den Hauptflecken der Referenzlösung.	



Hinweise zur Lagerung

Gefäß bei Zimmertemperatur (15 °C bis 25 °C) dicht verschlossen, trocken und lichtgeschützt lagern.

Verwendbarkeitsfrist beachten!

Freigabe durch Apotheker/Apothekerin



Qualität entspricht (siehe Prüfzertifikat und Kontrolle des Prüfzertifikats)



Identität entspricht

Datum

Unterschrift verantwortliche/r Apotheker/in

Literaturverzeichnis

Deutscher Arzneimittel-Codex/Neues Rezeptur-Formularium. 2021. GOVI Imprint AVOXA, Eschborn

Europäisches Arzneibuch 10.0-10.3. Grundwerk 2020 inkl. 1. bis 3. Nachtrag 2021. Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart