

Seite 1 von 18	Typ: <b>Projektbericht</b> Nummer: <b>PR00444/1</b> Titel: <b>Gehaltbestimmung von delta-9-THC und delta-9-THC-Säure in medizinischen Cannabisprodukten</b>	
----------------	---	---

**Bericht Nr.: PR00444/1**

**Gehaltbestimmung von delta-9-THC und delta-9-THC-Säure in  
medizinischen Cannabisprodukten**

für

Storz & Bickel GmbH & Co. KG

Änderungshinweis:

Version	ersetzt	Änderung; Begründung	gültig ab
1	-/-	Neuerstellung	08. FEB. 2018

Erstellung:

Name/Funktion	Firma/Abteilung	Datum	Unterschrift
i. A. Mario Gerst Laboratory Services	HWI pharma services GmbH Laboratory Services	08. FEB. 2018	

Prüfung/Freigabe:

Name/Funktion	Firma/Abteilung	Datum	Unterschrift
i. A. Torben Klemm Head of Laboratory Services	HWI pharma services GmbH Laboratory Services	08. FEB. 2018	

Seite 2 von 18	Typ: <b>Projektbericht</b> Nummer: <b>PR00444/1</b> Titel: <b>Gehaltbestimmung von delta-9-THC und delta-9-THC-Säure in medizinischen Cannabisprodukten</b>	
----------------	---	---

## Zusammenfassung

Ziel dieser Studie ist die Identifizierung und Quantifizierung von Cannabinoiden in medizinischen Cannabisprodukten und deren Verdampfungsprodukten.

Auf Basis der Methode zur Gehaltsbestimmung von wirksamen Bestandteilen in Cannabisblüten nach DAC-Monographie wurde ein HPLC-System optimiert und etabliert, mit dem die in Cannabisblüten relevanten Inhaltsstoffe delta-9-THC-Säure und Cannabidiolsäure sowie deren Umsetzungsprodukte delta-9-THC und Cannabidiol identifiziert und quantifiziert werden können.

Unter kontrollierten Bedingungen bei 190 °C in einem Trockenschrank wird nach etwa 10 Minuten eine fast vollständige Umsetzung von delta-9-THC-Säure zu delta-9-THC erreicht.

Anhand eines vorgeschlagenen Versuchsaufbaus wurde überprüft, welche Mengen an delta-9-THC durch den Verdampfer Mighty Magic aus Cannabisblüten umgesetzt sowie freigesetzt und wieder aufgefangen werden können.

Durch den Verdampfungsprozess im Mighty Magic bei 180 °C und 20 Zügen wird fast die gesamte Menge an delta-9-THC-Säure zu delta-9-THC umgesetzt. Dies belegen die Ergebnisse der Untersuchungen der Restmengen aus den Dosierkapseln, sowie die Ergebnisse des mittels Filter aufgefangenen verdampften Aerosols.

Dabei konnten nur noch sehr geringe Restmengen an delta-9-THC-Säure quantifiziert werden. Durch einen zusätzlichen Boostprozess bei 210 °C ergibt sich somit kein weiterer relevanter Effekt, da bereits vorher schon fast alles an delta-9-THC-Säure umgesetzt und als delta-9-THC freigesetzt wurde.

Ausgehend von einer theoretisch möglichen Menge an delta-9-THC nach dem Umsetzungsprozess von etwa 19 bis 20 Gewichts-% in den verwendeten Cannabisblüten, werden über den beschriebenen Versuchsaufbau mit den verwendeten Filtern etwa 50 bis 60 % wieder aufgefangen (10,2 % bis 11,2 % delta-9-THC in Cannabisblüten).

Dies konnte reproduzierbar in mehreren Versuchen und mit verschiedenen Auffangfiltern belegt werden.

Als weiteres Vorgehen wird ein alternativer, noch nicht definierter Versuchsaufbau vorgeschlagen, um zu überprüfen, ob die Menge an freigesetztem und wieder aufgefangenem delta-9-THC von etwa 50 bis 60 % der theoretisch verfügbaren Menge bestätigt werden kann.

Seite 3 von 18	<b>Typ: Projektbericht</b> <b>Nummer: PR00444/1</b> <b>Titel: Gehaltbestimmung von delta-9-THC und delta-9-THC-Säure in medizinischen Cannabisprodukten</b>	
----------------	---	---

## INHALTSVERZEICHNIS

Zusammenfassung	2
1 Allgemeine Informationen	4
1.1 Name und Anschrift des Auftraggebers	4
1.2 Name und Anschrift des Projektleiters bei HWI pharma services GmbH	4
2 Einleitung	5
3 Proben, Materialien	5
3.1 Referenzsubstanzen	5
3.2 Proben	5
3.3 Geräte	6
3.4 Reagenzien	6
3.5 HPLC-System	7
4 Verifizierung der HPLC-Methode	8
4.1 Spezifität	8
4.2 Linearität	12
4.3 Richtigkeit	12
5 Überprüfung der Umsetzung von delta-9-THC-Säure zu delta-9-THC	13
5.1 Versuchsaufbau	13
5.2 Herstellung der Lösungen	15
5.2.1 Standardlösung delta-9-THC	15
5.2.2 Standardlösung delta-9-THC-Säure	15
5.2.3 Probelösung Cannabisblüten zur Prüfung der Umsetzung	15
5.2.4 Probenaufarbeitung Aerosol	16
5.3 Ergebnisse	16
6 Zusammenfassung und weiteres Vorgehen	18

Seite 4 von 18	Typ: <b>Projektbericht</b> Nummer: <b>PR00444/1</b> Titel: <b>Gehaltbestimmung von delta-9-THC und delta-9-THC-Säure in medizinischen Cannabisprodukten</b>	
----------------	---	---

## **1 Allgemeine Informationen**

### **1.1 Name und Anschrift des Auftraggebers**

Storz & Bickel GmbH & Co. KG  
Markus Storz  
In Grubenäcker 5-9  
78532 Tuttlingen  
Tel: +49-7461-969707-0  
Fax: +49-7461-969707-7  
E-Mail: mstorz@storz-bickel.com

### **1.2 Name und Anschrift des Projektleiters bei HWI pharma services GmbH**

HWI pharma services GmbH  
Torben Klemm  
Rheinzaberner Str. 8  
76761 Rülzheim  
Tel.: +49-7272-7767-2947  
Fax.: +49-7272-7767-11  
E-Mail: t.klemm@hwi-group.de  
www.hwi-group.de

Seite 5 von 18	Typ: <b>Projektbericht</b> Nummer: <b>PR00444/1</b> Titel: <b>Gehaltbestimmung von delta-9-THC und delta-9-THC-Säure in medizinischen Cannabisprodukten</b>	
----------------	---	---

## 2 Einleitung

Ziel dieser Studie ist die Identifizierung und Quantifizierung von Cannabinoiden in medizinischen Cannabisprodukten und deren Verdampfungsprodukten.

Dazu sollte im ersten Schritt eine Methode zur Gehaltbestimmung von Cannabinoiden mittels HPLC und UV-Detektion entwickelt werden. Im zweiten Schritt wurde die Umsetzung der relevanten Inhaltsstoffe Cannabidiolsäure und delta-9-THC-Säure durch Erhitzen zu Cannabidiol und delta-9-THC überprüft. Dies erfolgte sowohl unter kontrollierten Bedingungen in einem Trockenschrank zur Ermittlung der maximal möglichen Umsetzungsrate sowie anschließend im Verdampfer Mighty Medic durch Adsorption der Umsetzungsprodukte auf einem Filter.

## 3 Proben, Materialien

### 3.1 Referenzsubstanzen

Referenzsubstanz	Charge	Laborcode	Lieferant	Gehalt
Cannabidiol (CBD)	DWO161.207-2	51543	THC Pharm GmbH	99,9 %
Cannabidiolsäure (CBD-A) (1 mg/mL in Methanol)	L01516-M-1.0	51544	THC Pharm GmbH	94,9 %
delta-9- Tetrahydro- cannabinol-Säure (delta-9-THC-A) (1 mg/mL in Methanol)	OL00103-M-1.0	51545	THC Pharm GmbH	99,2 %
delta-9- Tetrahydrocannabinol (Dronabinol / delta-9-THC)	S17-004	51546	THC Pharm GmbH	98,8 %
delta-8- Tetrahydrocannabinol (delta-8-THC) (1 mg/mL in Methanol)	L01517-M-1.0	51547	THC Pharm GmbH	99,2 %
Cannabinol (1 mg/mL in Methanol)	FE06081502	51554	Sigma-Aldrich	ohne Angabe
delta-9- Tetrahydrocannabinolsäure (delta-9-THC-A)	BCBV4052	53044	Sigma.Aldrich	98,8 %

### 3.2 Proben

Probe	Charge	Lieferant	Laborcode
Cannabis flos Bedrocan	16L12EY17E31-3345	Fagron	51585-1
Cannabis flos Bedrocan	16L12EY17E31-3345		51585-2

Seite 6 von 18	Typ: <b>Projektbericht</b> Nummer: <b>PR00444/1</b> Titel: <b>Gehaltbestimmung von delta-9-THC und delta-9-THC-Säure in medizinischen Cannabisprodukten</b>	
----------------	---	---

### 3.3 Geräte

Gerät	Typ, Firma
HPLC	HPLC Alliance 2695 mit Degaser, Autosampler mit PDA-Detektor, Waters
Vorsäule	EC 4/3 Nucleosil 100-3 C18; Macherey-Nagel
Säule	Nucleosil 100-3 C18, 3 µm 250 x 4 mm, Fa. Macherey-Nagel HWI-Säulen-Nr.: B1979
Auswertesystem	PC mit Software Empower, Waters
Verdampfer	Mighty Medic, Storz & Bickel GmbH & Co. KG
Trockenschrank	UN30, Memmert
Ultraschallbad	Sonorex RK 1028 H, Bandelin
Schüttler	3018, GFL
Zentrifuge	Heraeus Multifuge X3R, Thermo Scientific
Vakuumpumpe	High Capacity pump model HCP 5, Copley Scientific
Trockenpulver-Kontrollgerät	TPK 2000, Copley Scientific
Durchflussmessgerät	Flowmeter DFM 3, Copley Scientific
Probensammelrohr	DUSA for DPI, Copley Scientific
Filter	Hellbraunrandfilter 0,45 µm (regenerierte Cellulose), Whatman
Filter	Glasfaserfilter, 47 mm für DPI, Copley Scientific (Art.-Nr.: 8603)
Filter	Microglasfaserfilter, 47 mm GF/F, Whatman (Art.-Nr.: 1825-041)
Waage	diverse Wägebereiche, Sartorius
Handelsübliche Laborgeräte	

### 3.4 Reagenzien

Produkt	Hersteller/Lieferant	Art.-Nr.
Acetonitril, HPLC-Qualität	VWR	1.00030.5000
Ethanol 96 %, Ph.Eur.	VWR	20905.320
Methanol, HPLC Qualität	VWR	1.06007.5000
o-Phosphorsäure 85 %, HPLC Qualität	Honeywell	79606
o-Phosphorsäure 85 %, HPLC Qualität	VWR	153154D
Wasser, HPLC-Qualität	HPLC-Qualität, aus der Laborherstellung, arbeitstäglich frisch abgefüllt	

Seite 7 von 18	Typ: <b>Projektbericht</b> Nummer: <b>PR00444/1</b> Titel: <b>Gehaltbestimmung von delta-9-THC und delta-9-THC-Säure in medizinischen Cannabisprodukten</b>	
----------------	---	---

### 3.5 HPLC-System

HPLC:	HPLC Alliance 2695 mit Degaser, Autosampler, Waters						
Detektion	PDA 2998 bei 225 nm, Waters						
Vorsäule	EC 4/3 Nucleosil 100-3 C18; Macherey-Nagel						
Säule:	Nucleosil 100-3 C18, 3 µm 250 x 4 mm, Fa. Macherey-Nagel						
Eluenten:	Eluent A: o-Phosphorsäure 85 % (8,64 g/L) Eluent B: Acetonitril						
Gradient:	min	0	30	35	36	45	
	Eluent A [%]	40	10	10	40	40	
	Eluent B [%]	60	90	90	60	60	
Flussrate:	1,0 mL/min						
Probenraumtemperatur:	5 °C						
Säulentemperatur:	20 °C						
Injektionsvolumen:	20 µL						
Laufzeit:	45 min						
Retentionszeiten:	Cannabidiolsäure: ca. 11,8 min Cannabidiol: ca. 12,8 min Cannabinol: ca. 16,6 min delta-9-THC: ca. 18,5 min delta-8-THC: ca. 18,9 min delta-9-THC-Säure: ca. 22,1 min						

Als Basis der HPLC-Methode diente die Methode aus der DAC-Monographie zu Cannabisblüten. Die Methode wurde etabliert, zur Trennung der einzelnen Bestandteile in der untersuchten Cannabisblütencharge optimiert und anschließend verifiziert.

Die Verifizierung erfolgte durch Beleg der Spezifität der zur Verfügung stehenden Einzelkomponenten, der Überprüfung der Linearität von delta-9-THC und Cannabidiol sowie der Richtigkeit. Die Richtigkeit wurde durch die Bestimmung der Wiederfindung belegt, indem zu einer reduzierten Probeneinwaage delta-9-THC, delta-9-THC-Säure und Cannabidiol aufdotiert wurde.

## 4 Verifizierung der HPLC-Methode

### 4.1 Spezifität

Abbildung 1: Chromatogramm bei 225 nm Lösungsmittel (Methanol)

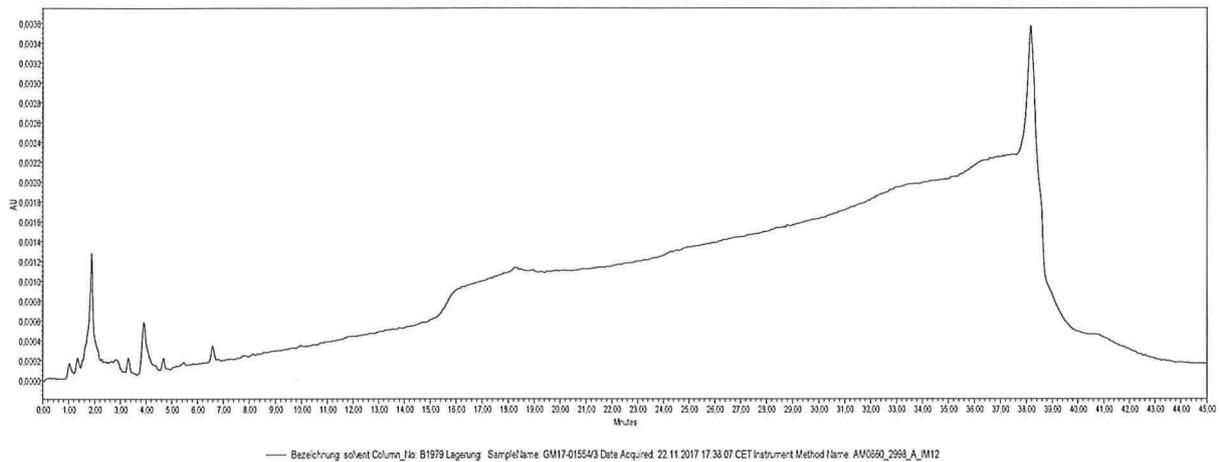


Abbildung 2: Chromatogramm bei 225 nm Standardlösung delta-9-THC (ca. 0,2 mg/mL)

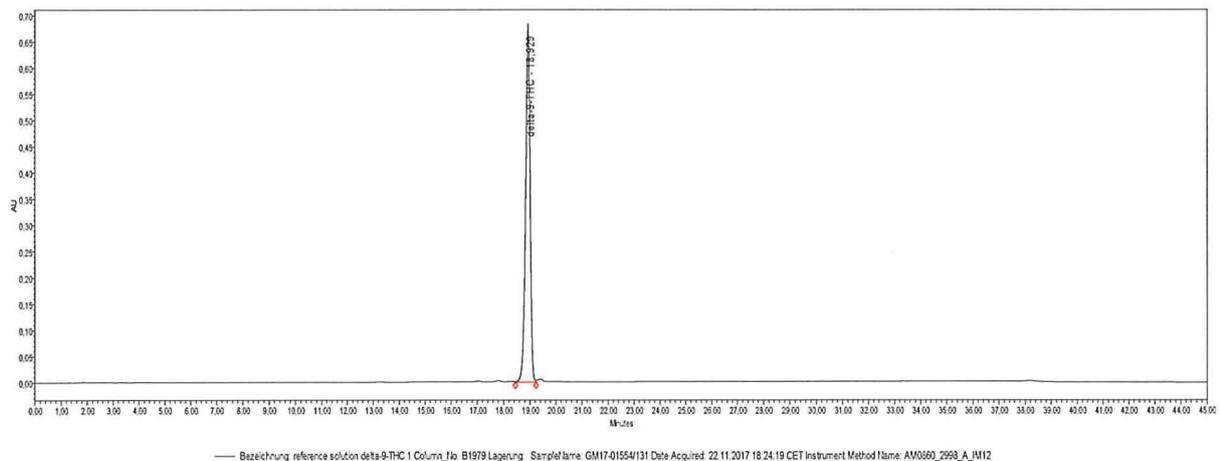


Abbildung 3: Chromatogramm bei 225 nm Standardlösung Cannabidiolsäure (ca. 0,1 mg/mL)

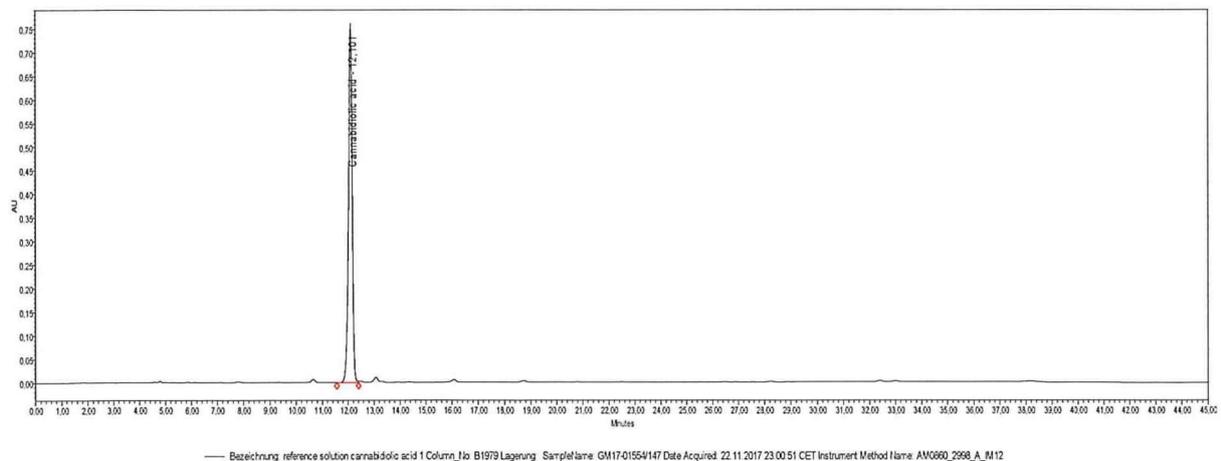


Abbildung 4: Chromatogramm bei 225 nm Standardlösung Cannabidiol (ca. 0,1 mg/mL)

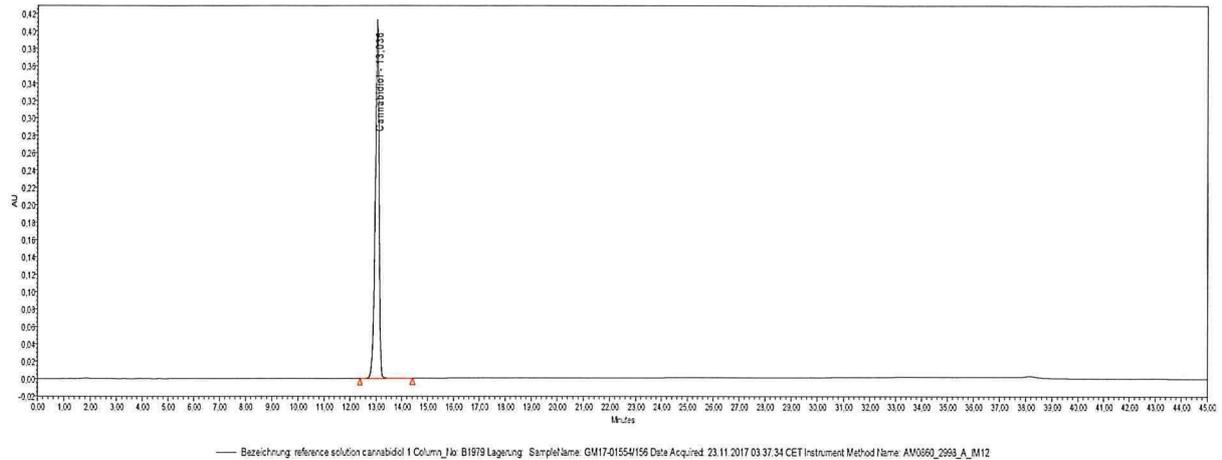


Abbildung 5: Chromatogramm bei 225 nm Standardlösung delta-9-THC-Säure (ca. 0,05 mg/mL)

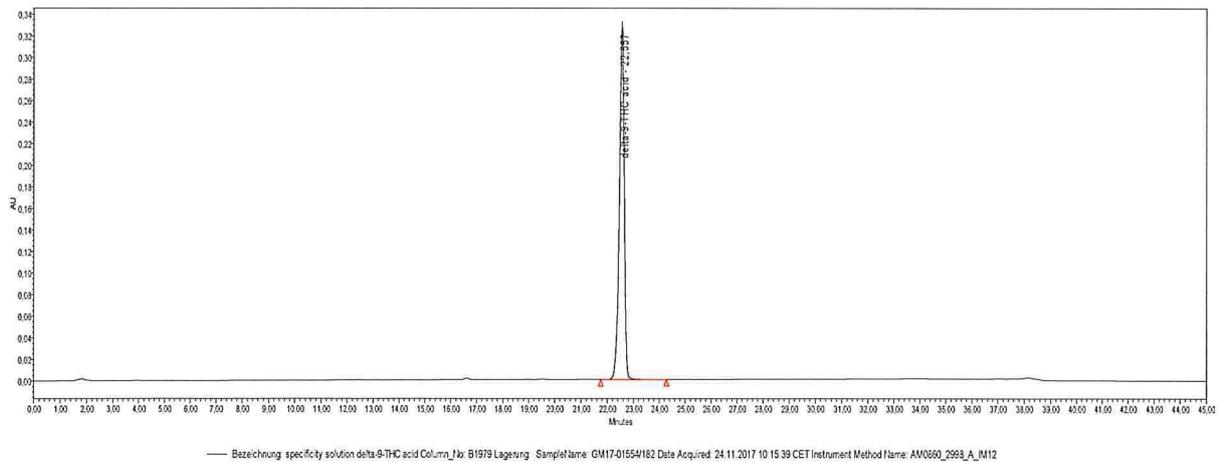


Abbildung 6: Chromatogramm bei 225 nm Standardlösung Cannabinol (ca. 0,05 mg/mL)

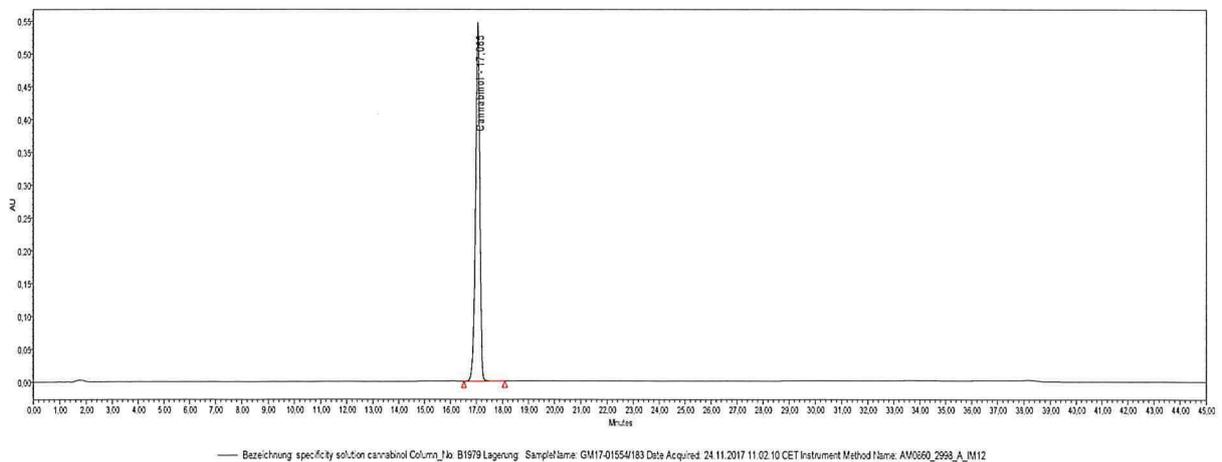


Abbildung 7: Chromatogramm bei 225 nm Standardlösung delta-8-THC (ca. 0,05 mg/mL)

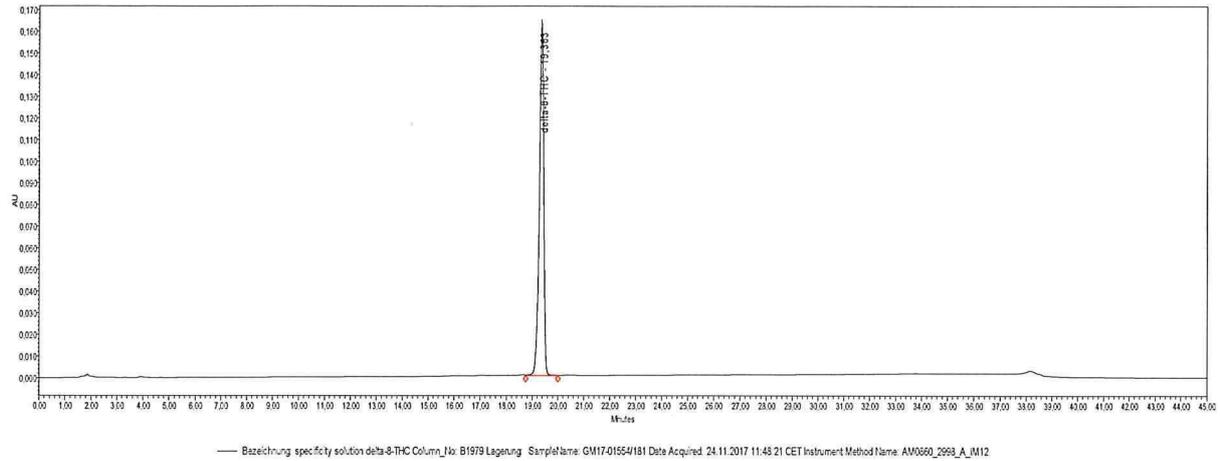


Abbildung 8: Chromatogramm bei 225 nm Cannabis flos Bedrocan, Ch.-B.: 16L12EY17E31, LC 51585 (ohne Inkubation, nach Extraktion mit Methanol)

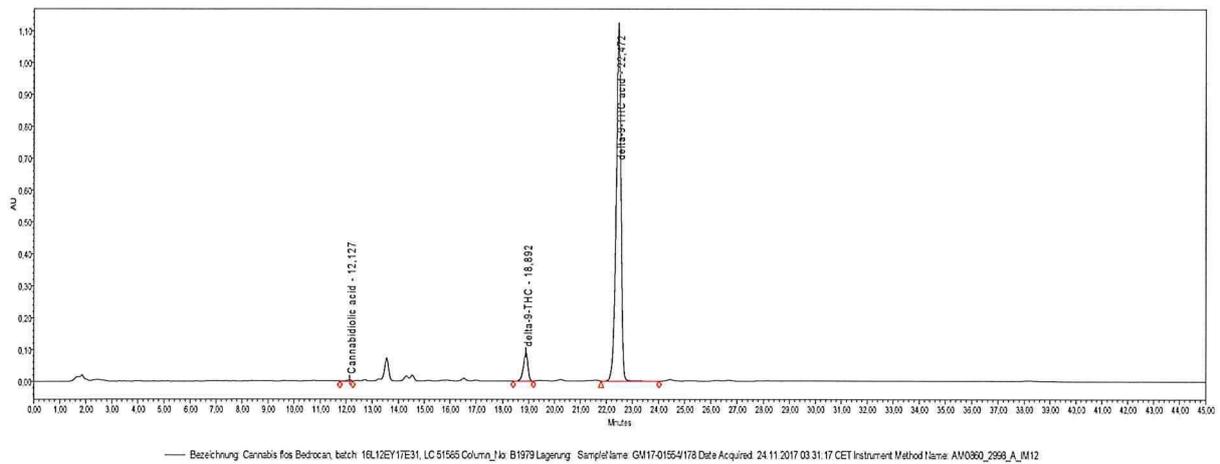


Abbildung 9: Chromatogramm bei 225 nm (gezoomt) Cannabis flos Bedrocan, Ch.-B.: 16L12EY17E31, LC 51585 (ohne Inkubation, nach Extraktion mit Methanol)

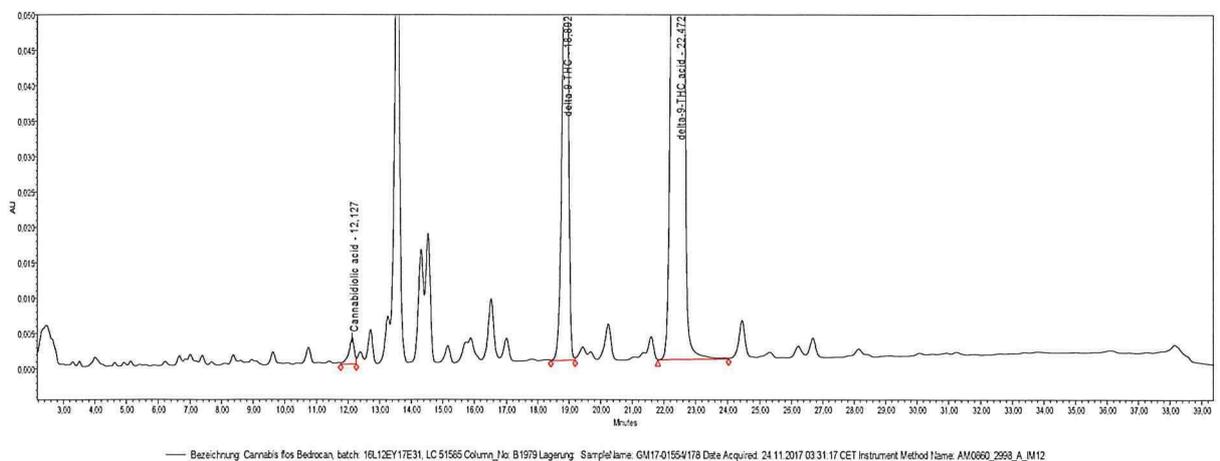


Abbildung 10: Chromatogramm bei 225 nm Cannabis flos Bedrocan, Ch.-B.: 16L12EY17E31, LC 51585 (nach Inkubation für 15 min bei 190°C, nach Extraktion mit Methanol)

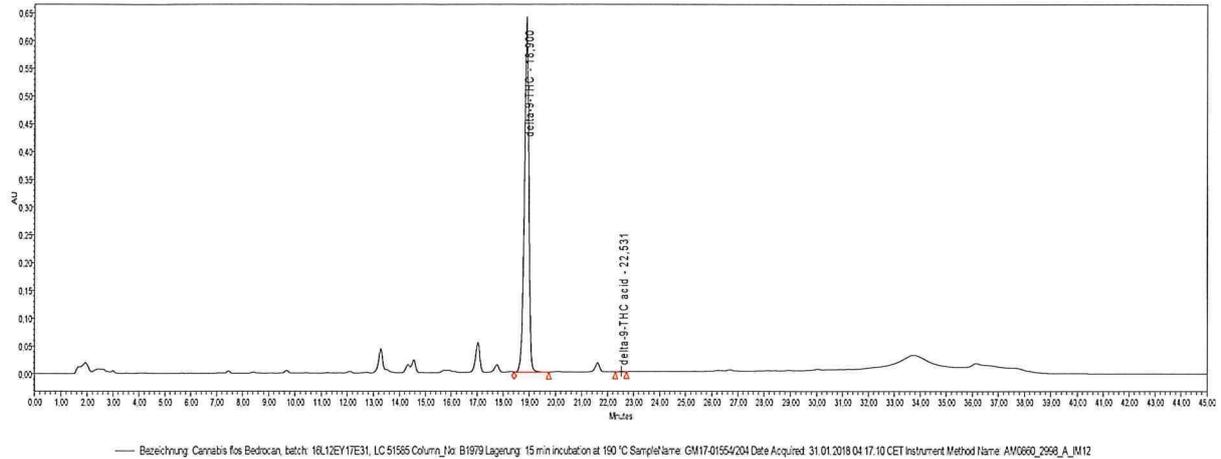
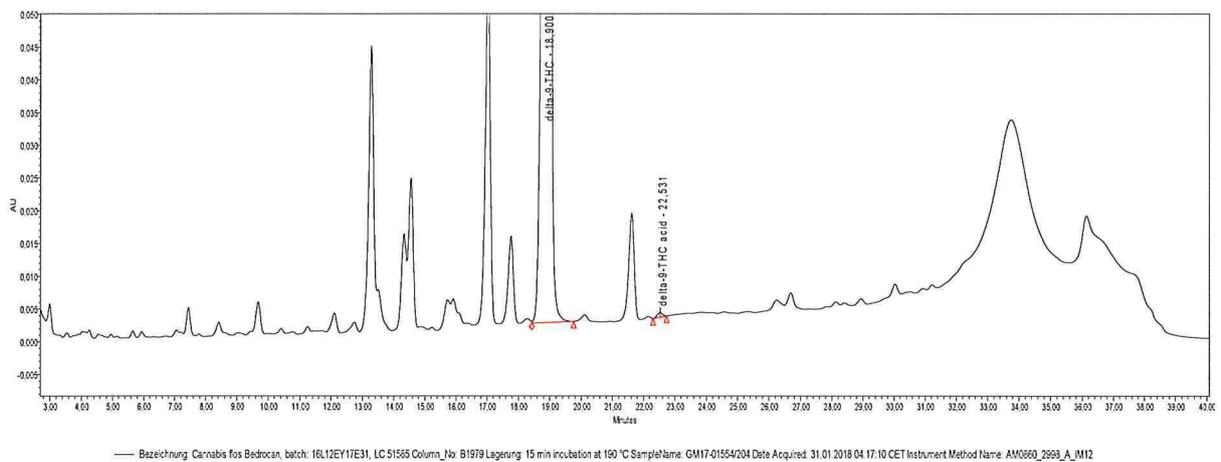


Abbildung 11: Chromatogramm bei 225 nm (gezoomed) Cannabis flos Bedrocan, Ch.-B.: 16L12EY17E31, LC 51585 (nach Inkubation für 15 min bei 190°C, nach Extraktion mit Methanol)



Seite 12 von 18	Typ: <b>Projektbericht</b> Nummer: <b>PR00444/1</b> Titel: <b>Gehaltbestimmung von delta-9-THC und delta-9-THC-Säure in medizinischen Cannabisprodukten</b>	
-----------------	---	---

## 4.2 Linearität

Die Linearität der Bestimmung von delta-9-THC und Cannabidiol wurde belegt, indem Standardlösungen der beiden Cannabinoide im Konzentrationsbereich zwischen LOQ und 200 % des Sollwertes hergestellt und vermessen wurden. Als Sollwert (100 % Wert) wurde der Maximalgehalt aktuell erwerbbarer medizinischer Cannabisprodukte von ca. 220 mg/g delta-9-THC bzw. ca. 100 mg/g Cannabidiol verwendet.

Die Linearität der Bestimmung wurde in folgendem Konzentrationsbereich bestimmt und belegt:

- 0,1 bis 400 µg delta-9-THC / mL Probelösung, entsprechend
- 0,11 bis 440 mg delta-9-THC / g medizinischen Cannabis entsprechend
- 0,05 bis 200 % des theoretischen Sollwertes (220 mg delta-9-THC/g Cannabisblüten)
  
- 0,1125 bis 180 µg Cannabidiol / mL Probelösung, entsprechend
- 0,125 bis 200 mg Cannabidiol / g medizinisches Cannabis entsprechend
- 0,125 bis 200 % des theoretischen Sollwertes (100 mg Cannabidiol/g Cannabisblüten)

Korrelationskoeffizient delta-9-THC:  $R = 0,99993$

Korrelationskoeffizient Cannabidiol:  $R = 0,99998$

## 4.3 Richtigkeit

Die Richtigkeit wurde durch die Bestimmung der Wiederfindung belegt, indem zu 30 % der Probeneinwaage entsprechend Prüfmethode Standardlösungen auf 3 unterschiedliche Konzentrationsstufen (< 1%, 100, 200 %) aufdotiert wurden.

Die Wiederfindung von delta-9-THC, Cannabidiolsäure und Cannabidiol wurde im folgenden Konzentrationsbereich bestimmt und belegt:

- 0,3 bis 399 µg delta-9-THC / mL Probelösung, entsprechend
- 0,3 bis 444 mg delta-9-THC / g medizinisches Cannabis entsprechend
- 0,2 bis 202 % delta-9-THC des theoretischen Sollwertes (220 mg delta-9-THC/g Cannabisblüten)
- 0,01 bis 171 µg Cannabidiolsäure / mL Probelösung, entsprechend
- 0,01 bis 190 mg Cannabidiolsäure / g medizinisches Cannabis entsprechend
- 0,01 bis 190 % Cannabidiolsäure des theoretischen Sollwertes (100 mg Cannabidiol/g Cannabisblüten)
- 0,1 bis 182 µg Cannabidiol / mL Probelösung, entsprechend
- 0,1 bis 202 mg Cannabidiol / g medizinisches Cannabis entsprechend
- 0,1 bis 202 % Cannabidiol des theoretischen Sollwertes (100 mg Cannabidiol/g Cannabisblüten)

Mittlere Wiederfindung delta-9-THC: 104,27 %

VK delta-9-THC: 1,02 %

Mittlere Wiederfindung Cannabidiolsäure: 104,62 %

VK Cannabidiolsäure: 1,76 %

Mittlere Wiederfindung Cannabidiol: 103,27 %

VK Cannabidiol: 4,18 %

## 5 Überprüfung der Umsetzung von delta-9-THC-Säure zu delta-9-THC

Entsprechend unterschiedlicher Literaturangaben erfolgt die Umsetzung von delta-9-THC-Säure sowie Cannabidiolsäure zu delta-9-THC bzw. Cannabidiol bei Temperaturen zwischen 180 °C und 200 °C innerhalb von etwa 5 bis 10 Minuten.

Dies wurde unter kontrollierten Bedingungen in einem Trockenschrank überprüft.

Anschließend erfolgten Versuche zur Umsetzung und Freisetzung der relevanten Inhaltsstoffe durch den Verdampfer Mighty Medic.

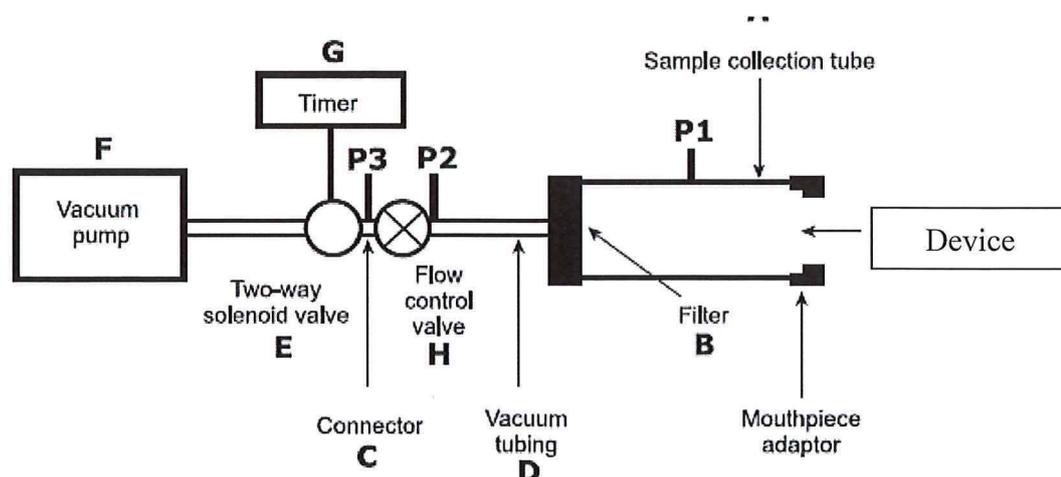
### 5.1 Versuchsaufbau

Zuerst wurde der Gehalt an delta-9-THC-Säure bzw. delta-9-THC im Ausgangsmaterial bestimmt. Dazu wurde das Produkt ohne vorherige Erwärmung extrahiert und analysiert. Da die untersuchte Charge Cannabisblüten so gut wie keine Cannabidiolsäure enthält (< 0,1%), wurde auf weitere Auswertungen dazu verzichtet und in den weiteren Versuchen ausschließlich die Umsetzung delta-9-THC-Säure → delta-9-THC betrachtet.

Die Versuche zur Umsetzung erfolgten in einem Trockenschrank bei 190 °C und Extraktion der Probe nach 5, 10 und 15 Minuten.

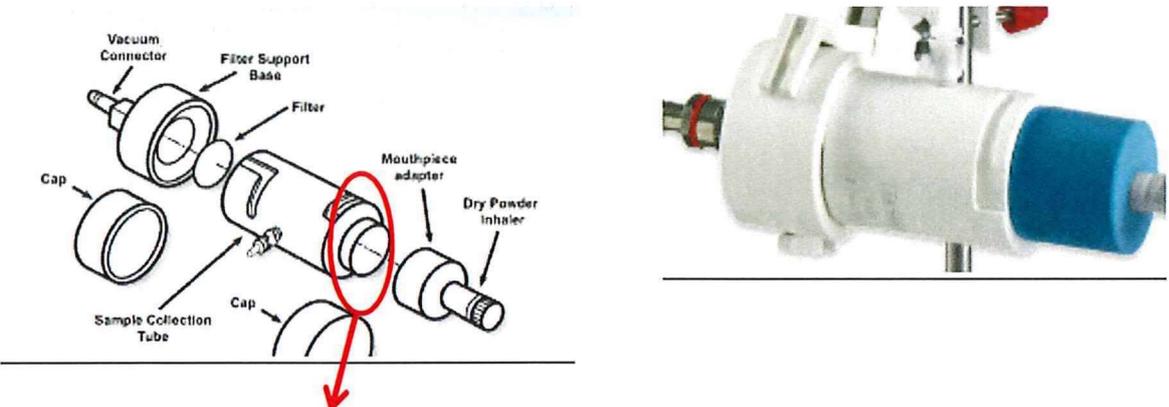
Im Anschluss wurde die Umsetzung und Freisetzung mittels Mighty Medic überprüft. Dazu wurde die dafür vorgesehene Dosierkapsel mit etwa 150 mg zerkleinerten und homogenisierten Cannabisblüten befüllt und entsprechend der Vorgaben des Auftraggebers mit dem Mighty Medic verdampft. Die freigesetzten Stoffe werden dabei über einen Microglasfaserfilter aufgefangen, extrahiert und analysiert.

Der Aufbau der dazu notwendigen Apparatur erfolgt in Anlehnung an die Bestimmung der abgegebenen Dosis für „Zubereitungen zur Inhalation“ gemäß Europäischem Arzneibuch.

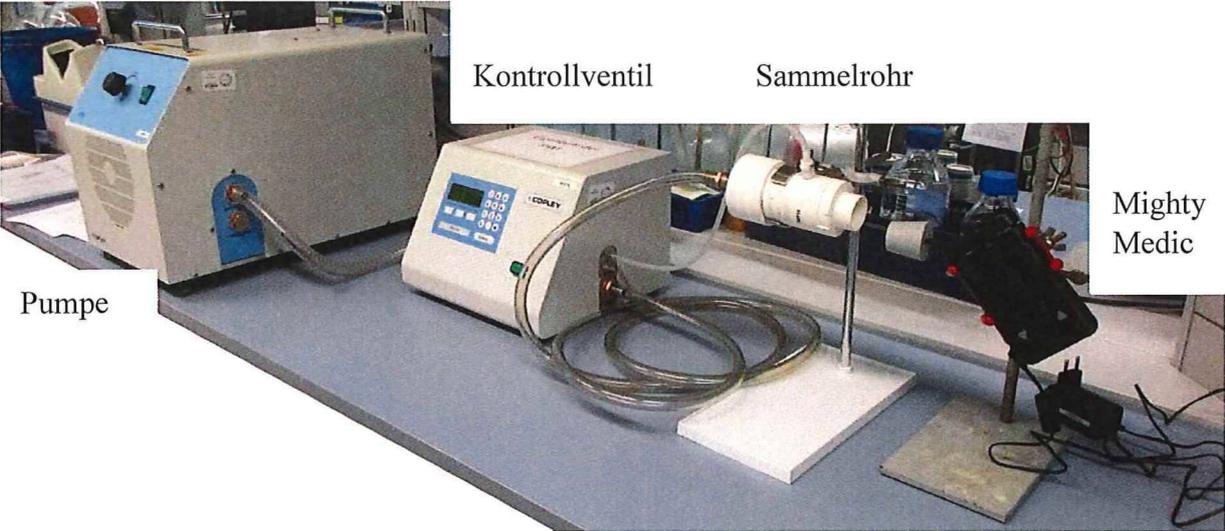


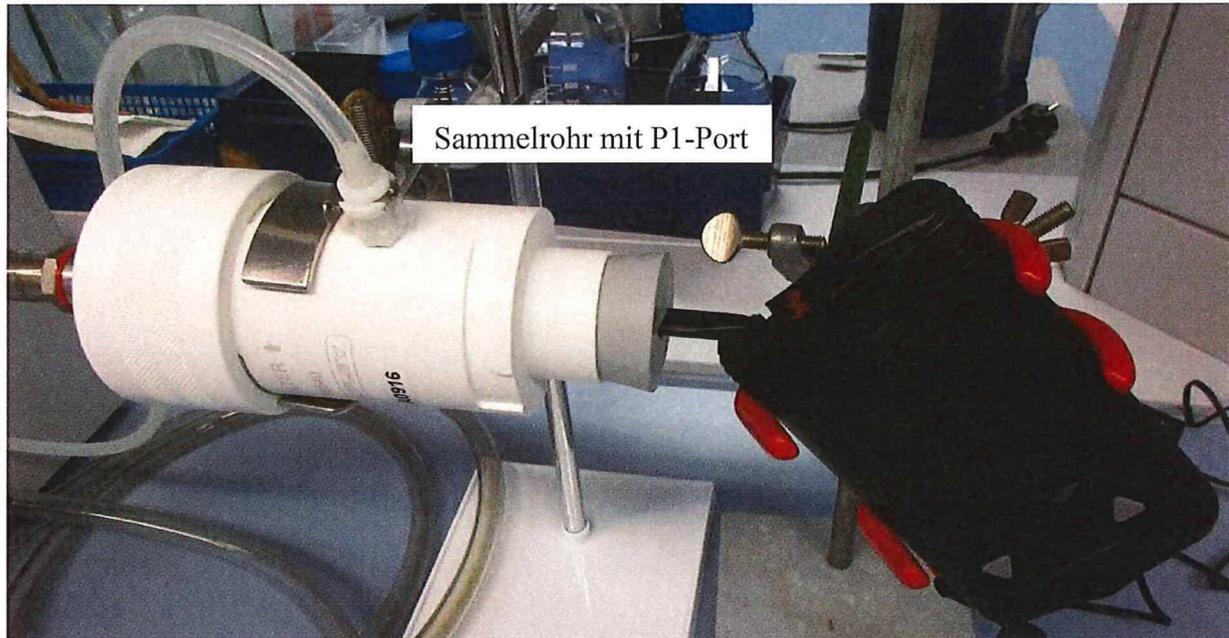
Das zu prüfende Device wird über einen Mundstückadapter direkt mit einem Sammelrohr verbunden. Für die Bestimmung wird Luft durch die Apparatur gezogen. Über den P1-Port wird eine Druckdifferenz von 4 kPa eingestellt. Öffnen und Schließen der Ventile, und damit das Inhalationsvolumen, wird über den Timer gesteuert. Die abgegebene Dosis bzw. das Aerosol wird im Sammelrohr mit Microglasfiltereinsatz aufgefangen; für die quantitative Bestimmung werden die aufgefangenen Substanzen gelöst und mittels HPLC untersucht.

Sammelrohr und Mundstückadapter:



Abmessungen Einlass Sammelrohr:  
 Außendurchmesser: ca. 37,9 mm  
 Innendurchmesser: ca. 34,85 mm  
 Länge: ca. 20 mm





## 5.2 Herstellung der Lösungen

### 5.2.1 Standardlösung delta-9-THC

Ca. 5 mg delta-9-THC, genau gewogen, werden in einen 25 mL Messkolben in Methanol gelöst und zur Marke aufgefüllt.

Konzentration delta-9-THC: ca. 200 µg/mL

### 5.2.2 Standardlösung delta-9-THC-Säure

Ca. 2 mg delta-9-THC-Säure, genau gewogen, werden in einen 10 mL Messkolben in Methanol gelöst und zur Marke aufgefüllt.

Konzentration delta-9-THC-Säure: ca. 200 µg/mL

### 5.2.3 Probelösung Cannabisblüten zur Prüfung der Umsetzung

Ca. 150 mg in einer Kräutermühle zerkleinerte medizinische Cannabisblüten, genau gewogen, werden in einem Rollrandglas im Trockenschrank bei 190 °C für je 5, 10 und 15 min erhitzt. Nach dem Abkühlen wird das Gefäß mit 15 mL Methanol gespült und der Inhalt in ein 40 mL Zentrifugentube überführt. Anschließend wird für 15 min bei 170 Hz geschüttelt und für 5 min bei 3500 U/min zentrifugiert. Der klare Überstand wird in einem 50 mL Messkolben gesammelt. Der Extraktionsvorgang wird noch 2 Mal wiederholt. Anschließend wird mit Methanol auf 50,0 mL aufgefüllt. Die Lösung wird durch einen 0,45 µm RC-Filter gedrückt. 3,0 mL des klaren Filtrats werden mit Methanol zu 10,0 mL verdünnt und injiziert.

Konzentration delta-9-THC-Säure: maximal ca. 200 µg/mL

Seite 16 von 18	Typ: <b>Projektbericht</b> Nummer: <b>PR00444/1</b> Titel: <b>Gehaltbestimmung von delta-9-THC und delta-9-THC-Säure in medizinischen Cannabisprodukten</b>	
-----------------	---	---

#### 5.2.4 Probenaufarbeitung Aerosol

Ca. 150 mg in einer Kräutermühle zerkleinerte medizinische Cannabisblüten, genau gewogen, werden mittels einer Dosierkapsel im Mighty Medic bei 180 °C verdampft. Mit Hilfe der auf 4 mbar eingestellten Vakuumpumpe und des Trockenpulverkontrollgeräts werden 20 Züge für 6 s durchgeführt. Zwischen den Zügen wird jeweils für 24 s pausiert. Nach dem Abkühlen wird das Filtergehäuse mit 15 mL Methanol gespült. Die Spüllösung und der Filter mit dem aufgefangenen Aerosol werden in eine 40 mL Zentrifugentube überführt. Anschließend wird für 15 min bei 170 Hz geschüttelt und für 5 min bei 3500 U/min zentrifugiert. Der klare Überstand wird in einem 50 mL Messkolben gesammelt. Der Extraktionsvorgang wird noch 2 Mal wiederholt. Anschließend wird mit Methanol auf 50,0 mL aufgefüllt. Die Lösung wird durch einen 0,45 µm RC-Filter gedrückt. 3,0 mL des klaren Filtrats werden mit Methanol zu 10,0 mL verdünnt und injiziert.

Zur Überprüfung der Vollständigkeit der Umsetzung wird der Verdampfungsvorgang mit gleicher Kapsel bei erhöhter Temperatur von 210 °C (Boosttemperatur) nochmals mit 10 Zügen wie oben beschrieben wiederholt. Dazu wird in das Filtergehäuse ein neuer Filter eingelegt und anschließend, wie beschrieben, wieder extrahiert und weiter aufgearbeitet.

Konzentration delta-9-THC-Säure: maximal ca. 200 µg/mL

### 5.3 Ergebnisse

In Tabelle 1 sind die Ergebnisse zur Umsetzung von delta-9-THC-Säure zu delta-9-THC bei kontrollierten Bedingungen im Trockenschrank bei 190 °C dargestellt.

Die Berechnungen erfolgten über die jeweiligen Standardlösungen.

Im Ausgangsmaterial zerkleinerter medizinischer Cannabisblüten sind dabei etwa 18,7 % delta-9-THC-Säure und 3,9 % delta-9-THC enthalten. Nach 10 min bei 190 °C ist eine fast vollständige Umsetzung von delta-9-THC-Säure zu delta-9-THC erreicht, wobei ein Maximalgehalt an delta-9-THC in der untersuchten Charge Cannabisblüten von etwa 19 bis 20 % angenommen werden kann.

Tabelle 2: Ergebnisse zur Umsetzung von delta-9-THC-Säure zu delta-9-THC bei 190 °C

Inkubationszeit	0 min	5 min	10 min	15 min
Gehalt delta-9-THC-Säure	18,74 %	15,46 %	0,66 %	0,01 %
Gehalt delta-9-THC	3,89 %	7,07 %	19,65 %	18,70 %

Für die Versuche zur Umsetzung und Freisetzung im Verdampfer Mighty Medic wurden unterschiedliche Filter verwendet. Diese unterscheiden sich in Porengröße und Dicke. Des Weiteren wurden jeweils auch 2 Filter gleichzeitig verwendet, um zu prüfen, ob dadurch eine größere Menge der verdampften und im Aerosol bzw. Dampf befindlichen Inhaltsstoffe aufgefangen werden können.

Seite 17 von 18	Typ: <b>Projektbericht</b> Nummer: <b>PR00444/1</b> Titel: <b>Gehaltbestimmung von delta-9-THC und delta-9-THC-Säure in medizinischen Cannabisprodukten</b>	
-----------------	---	---

Nach dem Verdampfungsprozess wurden zusätzlich die in der Dosierkapsel verbliebenen Reste wie unter Kapitel 5.2.3 beschrieben extrahiert und analysiert. Die Ergebnisse dazu sind in den Tabellen 2 bis 4 zusammengefasst. Für diese Versuche wurden jeweils Doppelaufarbeitungen durchgeführt und der Mittelwert der Ergebnisse angegeben.

*Tabelle 2: Ergebnisse Aerosol nach Verdampfung in Mighty Medic bei 180 °C*

	1 Glasfaserfilter	2 Glasfaserfilter	1 Glasfasermicrofilter	2 Glasfasermicrofilter
Gehalt delta-9-THC-Säure	0,13 %	0,15 %	0,13 %	0,09 %
Gehalt delta-9-THC	10,22 %	10,96 %	10,87 %	11,20 %

*Tabelle 3: Ergebnisse Aerosol nach weiterer Verdampfung in Mighty Medic bei Boosttemperatur (210 °C)*

	1 Glasfaser- microfilter (20 Züge bei 180 °C)	1 Glasfasermicro- filter (weitere 10 Züge bei 210 °C)	1 Glasfasermicro- filter (Extraktion der Dosierkapsel)	1 Glasfasermicro- filter (2. Extraktion des Filters)
Gehalt delta-9-THC-Säure	0,06 %	< LOQ	< LOQ	< LOQ
Gehalt delta-9-THC	10,36 %	0,55 %	0,05 %	0,02 %

*Tabelle 4: Ergebnisse Extraktion der Restmenge aus Dosierkapsel nach Verdampfungsprozess in Mighty Medic bei 180 °C*

	1 Glasfaserfilter	2 Glasfaserfilter	1 Glasfasermicrofilter	2 Glasfasermicrofilter
Restgehalt delta-9-THC-Säure	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
Restgehalt delta-9-THC	0,31 %	0,40 %	0,26 %	0,28 %

Durch den Verdampfungsprozess im Mighty Magic bei 180 °C und 20 Zügen wird fast die gesamte Menge an delta-9-THC-Säure zu delta-9-THC umgesetzt. Dies belegen die Ergebnisse der Untersuchungen der Restmengen aus den Dosierkapseln (Tabelle 4), sowie die Ergebnisse des mittels Filter aufgefangenen verdampften Aerosols (Tabelle 2). Durch den zusätzlichen Boostprozess bei 210 °C ergibt sich somit kein weiterer relevanter Effekt

Seite 18 von 18	Typ: <b>Projektbericht</b> Nummer: <b>PR00444/1</b> Titel: <b>Gehaltbestimmung von delta-9-THC und delta-9-THC-Säure in medizinischen Cannabisprodukten</b>	
-----------------	---	---

(Tabelle 3). Ausgehend von einer theoretisch möglichen Menge an delta-9-THC nach dem Umsetzungsprozess von etwa 19 bis 20 % in den verwendeten Cannabisblüten (Tabelle 1), werden über den beschriebenen Versuchsaufbau mit den verwendeten Filtern etwa 50 bis 60 % wieder aufgefangen (10,2 % bis 11,2 % delta-9-THC in Cannabisblüten).

## 6 Zusammenfassung und weiteres Vorgehen

Auf Basis der Methode zur Gehaltsbestimmung von wirksamen Bestandteilen in Cannabisblüten nach der DAC-Monographie wurde ein HPLC-System optimiert und verifiziert, mit dem die in Cannabisblüten relevanten Inhaltsstoffe delta-9-THC-Säure und Cannabidiolsäure sowie deren Umsetzungsprodukte delta-9-THC und Cannabidiol identifiziert und quantifiziert werden können.

Unter kontrollierten Bedingungen bei 190 °C in einem Trockenschrank wird nach etwa 10 Minuten eine fast vollständige Umsetzung delta-9-THC-Säure zu delta-9-THC erreicht.

Da die untersuchte Charge Cannabisblüten so gut wie keine Cannabidiolsäure enthält (< 0,1%), konnten zu dieser Umsetzung keine aussagekräftigen Ergebnisse ermittelt werden. Dies sollte bei weiteren Untersuchungen mit einer anderen geeigneten Charge Cannabisblüten überprüft werden.

Anhand eines vorgeschlagenen Versuchsaufbaus wurde überprüft, welche Mengen an delta-9-THC durch den Verdampfer Mighty Magic aus Cannabisblüten umgesetzt sowie freigesetzt und wieder aufgefangen werden können.

Durch den Verdampfungsprozess im Mighty Magic bei 180 °C und 20 Zügen wird fast die gesamte Menge an delta-9-THC-Säure zu delta-9-THC umgesetzt. Dies belegen die Ergebnisse der Untersuchungen der Restmengen aus den Dosierkapseln, sowie die Ergebnisse des mittels Filter aufgefangenen verdampften Aerosols.

Dabei konnten nur noch sehr geringe Mengen an delta-9-THC-Säure nachgewiesen werden.

Durch den zusätzlichen Boostprozess bei 210 °C ergibt sich somit kein weiterer relevanter Effekt, da bereits vorher schon so gut wie alles an delta-9-THC-Säure umgesetzt und als delta-9-THC freigesetzt wurde.

Ausgehend von einer theoretisch möglichen Menge an delta-9-THC nach dem Umsetzungsprozess von etwa 19 bis 20 % in den verwendeten Cannabisblüten, werden über den beschriebenen Versuchsaufbau mit den verwendeten Filtern etwa 50 bis 60 % wieder aufgefangen (10,2 % bis 11,2 % delta-9-THC in Cannabisblüten).

Dies konnte reproduzierbar in mehreren Versuchen belegt werden.

Als weiteres Vorgehen wird ein alternativer, noch nicht definierter Versuchsaufbau vorgeschlagen, um zu überprüfen, ob die Menge an freigesetztem und wieder aufgefangenem delta-9-THC von etwa 50 bis 60 % der theoretisch verfügbaren Menge bestätigt werden kann.