

CANNABIS FLOS

11.5:3028

Konopný květ

DEFINICE

Je to celé nebo rozlámané, plně vyvinuté usušené samičí květenství druhu *Cannabis sativa* L.
Obsah. Má-li být rostlinná droga předepsána pacientům jako léčivý přípravek, naměřené obsahy celkového tetrahydrokanabinolu nebo celkového kanabidiolu se neodchylují od hodnot uvedených v označení na obalu o více než ± 10 %.

Typ s převahou THC:

- celkový tetrahydrokanabinol, vyjádřeno jako Δ^9 -tetrahydrokanabinol ($C_{21}H_{30}O_2$; M_r 314,5): nejméně 5,0 % (vysušená droga);
- celkový kanabidiol, vyjádřeno jako kanabidiol ($C_{21}H_{30}O_2$; M_r 314,5): nejvýše 1,0 % (vysušená droga).

Smíšený typ THC/CBD:

- celkový tetrahydrokanabinol, vyjádřeno jako Δ^9 -tetrahydrokanabinol ($C_{21}H_{30}O_2$; M_r 314,5): nejméně 1,0 % (vysušená droga);
- celkový kanabidiol, vyjádřený jako kanabidiol ($C_{21}H_{30}O_2$; M_r 314,5): nejméně 1,0 % (vysušená droga);
- poměr celkového tetrahydrokanabinolu k celkovému kanabidiolu: 0,2 až 5,0 (vysušená droga).

Typ s převahou CBD:

- celkový tetrahydrokanabinol, vyjádřeno jako Δ^9 -tetrahydrokanabinol ($C_{21}H_{30}O_2$; M_r 314,5): nejvýše 1,0 % (vysušená droga);
- celkový kanabidiol, vyjádřeno jako kanabidiol ($C_{21}H_{30}O_2$; M_r 314,5): nejméně 5,0 % (vysušená droga).

VÝROBA

Pokud má být rostlinná droga předepisována pacientům jako léčivý přípravek, květenství se seřízne u báze tak, aby obsahovalo minimální zbytek osy květenství.

ZKOUŠKY TOTOŽNOSTI

A. V závislosti na odrůdě se zbarvení rostlinné drogy různí od tmavě zeleného po světle žluté nebo od světle hnědého do červenohnědého. Celé samičí květenství tvoří hustá nebo více či méně řídká lata, složená z přisedlých nebo téměř přisedlých protáhlých listenů (délky asi

10 mm) se zubatými okraji, které se prolínají s květy. Rozlámané květenství zahrnuje části osy květenství, listenů a laty, spolu s jednotlivými květy nebo květními orgány. Samičí květy jsou velmi malé (asi 2 mm) s krátkou stopkou. Květní obaly jsou tvořeny kalichem, koruna chybí. Kalich, často označovaný jako listenec, je ovinutý kolem jednoplodolistového semeníku, nesoucího dvě čnělky, z nichž každá je zakončena jemnou oranžovohnědou bliznou delší než kalich. Květenství je více či méně hustě chlupaté s krycími chlupy a se žláznatými chlupy, které obsahují lepkavou pryskyřici s aromatickým pachem.

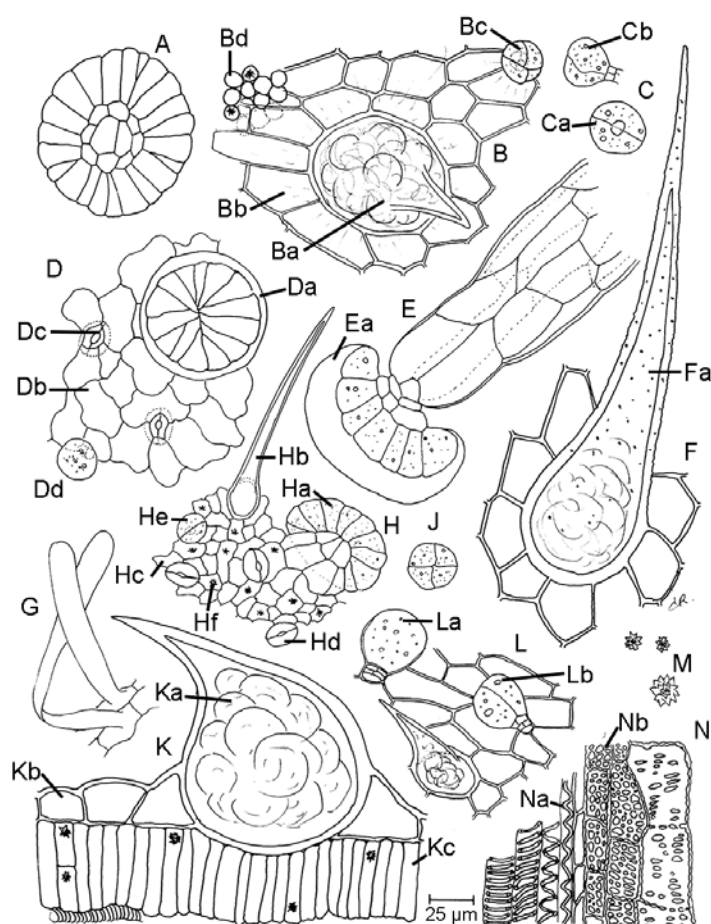
B. Mikroskopické hodnocení (2.8.23), mleté nebo rozdrcené rostlinné drogy (neprosáté).

Zbarvení se různí od tmavě zeleného po žlutozelené nebo od světle hnědého do červenohnědého. Pozoruje se pod mikroskopem v *chloralhydrátu RS*. Mletá nebo rozdrcená rostlinná droga je charakteristická těmito znaky (viz obrázek 3028-1): velmi četné žláznaté nebo krycí chlupy, jednotlivé nebo spojené s pokožkou, různých typů:

a) celé žláznaté chlupy s mnohořadou, mnohobuněčnou nohou a s mnohobuněčnou hlavičkou pokrytou vyklenutou kutikulou (příčný řez [E]), nebo úlomky těchto chlupů tvořené pouze nohou nebo hlavičkou [A]; některé mají velmi krátkou nohu [Ha], jiné jsou přisedlé; některé stále mají vyklenutou kutikulu nad žláznatými buňkami (plošný pohled [Da], příčný řez [Ea]), zatímco jiné ji již nemají [A]; b) malé žláznaté chlupy s jedno- nebo dvouřadou nohou a jedno-, dvou- nebo čtyřbuněčnou hlavičkou obsahující oranžovožluté kapénky (plošný pohled [Bc, Ca, J], boční pohled [Cb, La, Lb]);

c) cystolitické [Fa, Ka] a necystolitické jednobuněčné krycí chlupy; kuželovité, cystolitické krycí chlupy mají buď ztlustlé stěny, širokou bázi, zakřivený ostrý konec a zřetelně viditelnou, hrudkovitou, kulovitou inkluzi uhličitanu vápenatého (plošný pohled [Ba], příčný řez [Ka]), nebo užší bázi s výrazně tečkovanými stěnami [Fa]; necystolitické krycí chlupy jsou protáhlejší a mají ztlustlé hladké stěny [Hb]; úlomky svrchní pokožky listenů (plošný pohled [B, F, L]) někdy pokryté jemnou, rýhovanou kutikulou, složené z mnohohranných buněk s tuhými stěnami [Bb], cystolitických krycích chlupů [Ba, Fa] a malých žláznatých chlupů (plošný pohled [Bc], boční řez [La, Lb]); svrchní pokožka je obvykle spojena s palisádovým parenchymem, v němž některé buňky obsahují malé drúzy kalcium-oxalátu [Bd]; úlomky spodní pokožky listenů [D], skládající se z buněk s mírně zvlněnými stěnami [Db], anomocytických průduchů (2.8.3) [Dc], malých žláznatých chlupů [Db] a žláznatých chlupů s mnohobuněčnou nohou a mnohobuněčnou hlavičkou [Da]; úlomky čepele listenů (příčný řez [K]), které jsou tvořeny svrchní částí pokožky pokryté kutikulou [Kb], s obdélníkovými buňkami a s cystolitickými krycími

chlupy [Ka], a vrstvou palisádového parenchymu, jehož některé buňky obsahují malé drúzy kalcium-oxalátu [Kc]; úlomky spodní pokožky listenců [H] s mírně zvlněnými buňkami [Hc], žláznatými chlupy s krátkou nohou [Ha], anomocytickými průduchy [Hd], necystolitickými krycími chlupy [Hb] a malými žláznatými chlupy [He]; malé drúzy v mezofylu jsou zřetelně viditelné v úlomcích pokožky listenců [Hf]; úlomky oranžovohnědých blizen s pokožkovými buňkami, které mají velmi jemné, sotva patrné stěny a jsou zakončeny velkou papilou se zaobleným koncem [G]; úlomky osy květenství [N] obsahující celulosová vlákna, spirálovitě [Na] nebo prstencovitě cévy a buňky dřene se síťovitými stěnami [Nb], z nichž některé obsahují drúzy kalcium-oxalátu o průměru asi 30 µm; jednotlivé drúzy kalcium-oxalátu [M].



Obr. 3028-1 Ilustrace ke zkoušce totožnosti B mleté nebo rozdrčené rostlinné drogy konopného květu

C. Vysokoúčinná tenkovrstvá chromatografie (2.8.25).

Zkoušený roztok. 0,5 g řezané nebo mleté rostlinné drogy (neprosáté) se převede do zkumavky a přidá se 5,0 ml *methanolu R*. Zkumavka se uzavře a směs se 10 s důkladně

míchá a protřepává (vortex). Působí se 5 min ultrazvukem a potom se 10 s důkladně míchá a protřepává (vortex). Tento postup se opakuje dvakrát. Odstředí se a použije supernatant.

Porovnávací roztok (a). 5,0 mg *kanabidiolu R* se rozpustí v 1,0 ml

Δ^9 -tetrahydrokanabinolu RS.

Porovnávací roztok (b). 0,25 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí *methanolem R* na 1,0 ml.

Porovnávací roztok (c). 1 mg *kanabidiolu R* a 1 mg *kyseliny kanabidiolové R* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 1 ml.

Marker intenzity, porovnávací roztoky (a) a (b):

– Δ^9 -tetrahydrokanabinol.

Stacionární fáze. Deska s vrstvou silikagelu *F₂₅₄ oktadecylsilylovaného pro TLC R* (2 μ m až 10 μ m).

Mobilní fáze. Směs objemových dílů *vody R*, *kyseliny octové ledové R* a *methanolu R* (10 + 10 + 80).

Nanášení. 2,0 μ l; do proužků 8 mm.

Vyvíjení. 70 mm od dolního okraje desky.

Sušení. 5 min v proudu vzduchu při teplotě místnosti.

Detekce. Deska se postříká *zkoumadlem vanilinovým R* a zahřívá se 3 min při 100 °C a pak se nechá 3 min chladit; pozoruje se v denním světle.

Test způsobilosti, porovnávací roztok (c):

– ve střední třetině chromatogramu jsou dvě zřetelné skvrny, které se mohou dotýkat; dolní skvrna (kyselina kanabidiolová) a horní skvrna (kanabidiol) jsou šedé až červenofialové.

Hodnocení. Viz dále uvedené pořadí skvrn na chromatogramech porovnávacího roztoku (a) a zkoušeného roztoku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku mohou být přítomny další velmi slabé skvrny. Pokud jsou přítomny, je skvrna kyseliny Δ^9 -tetrahydrokanabinolové intenzivnější než skvrna Δ^9 -tetrahydrokanabinolu. Pokud jsou přítomny, je skvrna kyseliny kanabidiolové intenzivnější než skvrna kanabidiolu.

Horní okraj desky			
kanabidiol: červenofialová skvrna		červenofialová skvrna, slabá až velmi slabá (kanabidiol)	červenofialová skvrna, slabá až velmi slabá (kanabidiol)
Δ^9 -tetrahydro- kanabinol: červenofialová skvrna	červenofialová skvrna, slabá až ekvivalentní (Δ^9 -tetrahydrokanabinol)	červenofialová skvrna, slabá (Δ^9 -tetrahydrokanabinol)	šedá až červenofialová skvrna, velmi slabá, může chybět (Δ^9 -tetrahydrokanabinol)
	červenofialová skvrna, intenzivní (kyselina Δ^9 - tetrahydrokanabinolová)	červenofialová skvrna (kyselina Δ^9 - tetrahydrokanabinolová)	červenofialová skvrna, velmi slabá (kyselina Δ^9 - tetrahydrokanabinolová)
Porovnávací roztok (a)	Zkoušený roztok (typ s převahou THC)	Zkoušený roztok (smíšený typ THC/CBD)	Zkoušený roztok (typ s převahou CBD)

ZKOUŠKY NA ČISTOTU

Celkový obsah CBN. Kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok (a). K 0,50 g řezané nebo mleté (neprosáté) rostlinné drogy ve vhodné centrifugační zkumavce se šroubovacím uzávěrem se přidá 40 ml *ethanolu 96% R* a 15 min se protřepává. Roztok se odstředí při asi 1700 g a čirý supernatant se převede do baňky. Extrakce se opakuje dvakrát s 25 ml *ethanolu 96% R*. Supernatanty se spojí, zředí se *ethanolem 96% R* na 100,0 ml a zfiltrují se přes membránový filtr (jmenovitá velikost pórů 0,22 μm).

Zkoušený roztok (b). 1,0 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *methanolem R* na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 20,0 mg *kanabidiolu pro konopí seté CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 5,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí *methanolem R* na 20,0 ml.

Porovnávací roztok (c). 10,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí *methanolem R* na 25,0 ml.

Porovnávací roztok (d). K 50 mg *květu konopí setého pro test způsobilosti HRL* ve vhodné centrifugační zkumavce se šroubovacím uzávěrem se přidají 4 ml *ethanolu 96% R* a 15 min se

protřepává. Roztok se odstředí při asi 1700 g a čirý supernatant se převede do baňky. Extrakce se opakuje dvakrát s 2,5 ml *ethanolu 96% R*. Supernatanty se spojí, zředí se *ethanolem 96% R* na 10 ml a zfiltrují se přes membránový filtr (jmenovitá velikost pórů 0,22 μm).

Porovnávací roztok (e). 1 ml porovnávacího roztoku (d) se zředí *methanolem R* na 10 ml.

Kolona:

- *rozměry*: délka 0,15 m, vnitřní průměr 4,6 mm;
- *stacionární fáze*: *silikagel pro chromatografii oktadecylsilylovaný s tvrdým jádrem a s polárně stíněnými silanolovými skupinami R (2,7 μm)*;
- *teplota*: 35 °C.

Mobilní fáze. Směs objemových dílů roztoku *kyseliny trifluoroctové R 0,1% (V/V)* a *acetonitrilu pro chromatografii R (41 + 59)*.

Průtoková rychlost. 2,0 ml/min.

Detekce. Spektrofotometrický detektor, 228 nm.

Nástřik. 5 μl ; zkoušený roztok (a) a porovnávací roztoky (b) a (d).

Doba záznamu. Pětinasobek retenčního času kanabidiolu.

Identifikace píků. K identifikaci píku kanabidiolu se použije chromatogram porovnávacího roztoku (b); k identifikaci píků Δ^9 -tetrahydrokanabinolu, kyseliny Δ^9 -tetrahydrokanabinolové, kyseliny kanabidiolové, kanabinolu, kyseliny kanabinolové, kanabichromenu, kanabigerolu a kyseliny kanabigerolové se použije chromatogram dodaný s *květem konopí setého pro test způsobilosti HRL* a chromatogram porovnávacího roztoku (d).

Relativní retence vztažená ke kanabidiolu (retenční čas asi 6,9 min). Kyselina kanabidiolová asi 1,10; kanabigerol asi 1,17; kanabinol asi 1,48; kyselina kanabigerolová asi 1,63; Δ^9 -tetrahydrokanabinol asi 1,76; kyselina kanabinolová asi 2,38; kanabichromen asi 2,48; kyselina Δ^9 -tetrahydrokanabinolová asi 2,78.

Test způsobilosti, porovnávací roztok (d):

- *rozlišení*: nejméně 2,0 mezi píkem kyseliny kanabigerolové a píkem Δ^9 -tetrahydrokanabinolu;
- *poměr výšky píku k sedlu*: nejméně 1,5, kde H_p je výška píku kanabigerolu nad základní linií a H_v je výška nejnižšího bodu křivky oddělující tento pík od píku kyseliny kanabidiolové nad základní linií; nejméně 5,0, kde H_p je výška píku kyseliny kanabinolové nad základní linií a H_v je výška nejnižšího bodu křivky oddělující tento pík od píku kanabichromenu nad základní linií.

Obsah celkového CBN v procentech se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{[(A_1 \times 0,405) + (A_3 \times 0,901 \times 0,876)] \times m_2 \times p}{A_2 \times m_1 \times 4}$$

v němž značí:

- A_1 – plochu píku kanabinolu na chromatogramu zkoušeného roztoku (a);
- A_2 – plochu píku kanabidiolu na chromatogramu porovnávacího roztoku (b);
- A_3 – plochu píku kyseliny kanabinolové na chromatogramu zkoušeného roztoku (a);
- m_1 – hmotnost zkoušené rostlinné drogy použité k přípravě zkoušeného roztoku (a) v gramech;
- m_2 – hmotnost *kanabidiolu pro konopí seté CRL* použitého k přípravě porovnávacího roztoku (a) v gramech;
- p – obsah kanabidiolu v *kanabidiolu pro konopí seté CRL* v procentech;
- 0,405 – korekční faktor kanabinolu vztažený na kanabidiol;
- 0,901 – korekční faktor kyseliny kanabinolové vztažený na kanabidiol;
- 0,876 – poměr molekulové hmotnosti kanabinolu k molekulové hmotnosti kyseliny kanabinolové.

Limit:

– celkový CBN: nejvýše 1,0 %.

Cizí příměsi (2.8.2). Nejvýše 2 %; pokud je rostlinná droga předepsána pacientům jako léčivý přípravek, neobsahuje semena a celá rostlinná droga neobsahuje listy delší než 1,0 cm. Stanovení se provede s 25 g až 50 g rostlinné drogy.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 12,0 %; 1,000 g řezané nebo mleté (neprosáté) rostlinné drogy se suší 24 h nad asi 100 g *molekulového síta R* při tlaku 1,5 kPa až 2,5 kPa při 40 °C.

Arsen (2.4.27). Nejvýše 0,2 µg/g, pokud je rostlinná droga předepsána pacientům jako léčivý přípravek.

Kadmium (2.4.27). Nejvýše 1,0 µg/g; nebo nejvýše 0,3 µg/g, pokud je rostlinná droga předepsána pacientům jako léčivý přípravek.

Olovo (2.4.27). Nejvýše 5,0 µg/g; nebo nejvýše 0,5 µg/g, pokud je rostlinná droga předepsána pacientům jako léčivý přípravek.

Rtuť (2.4.27). Nejvýše 0,1 µg/g.

STANOVENÍ OBSAHU

Tento postup byl validován pro analytický rozsah 0,2 % až 32,0 % Δ^9 -tetrahydrokanabinolu, kyseliny Δ^9 -tetrahydrokanabinolové, kanabidiolu a kyseliny kanabidiolové.

Kapalinová chromatografie (2.2.29), jak je popsáno ve zkoušce Celkový obsah CBN (viz Zkoušky na čistotu) s následujícími úpravami.

Nástřík. Zkoušený roztok (b) a porovnávací roztoky (c) a (e).

Test způsobilosti, porovnávací roztok (e):

– *rozlišení:* nejméně 2,0 mezi píkem kanabidiolu a píkem kyseliny kanabidiolové.

Obsah celkového tetrahydrokanabinolu v procentech, vyjádřený jako Δ^9 -tetrahydrokanabinol, se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{[(A_1 \times 1,097) + (A_3 \times 0,691 \times 0,877)] \times m_2 \times p \times 4}{A_2 \times m_1}$$

v němž značí:

A_1 – plochu píku Δ^9 -tetrahydrokanabinolu na chromatogramu zkoušeného roztoku (b);

A_2 – plochu píku kanabidiolu na chromatogramu porovnávacího roztoku (c);

A_3 – plochu píku kyseliny Δ^9 -tetrahydrokanabinolové na chromatogramu zkoušeného roztoku (b);

m_1 – hmotnost zkoušené rostlinné drogy použité k přípravě zkoušeného roztoku (a) v gramech;

m_2 – hmotnost *kanabidiolu pro konopí seté CRL* použitého k přípravě porovnávacího roztoku (a) v gramech;

p – obsah kanabidiolu v *kanabidiolu pro konopí seté CRL* v procentech;

1,097 – korekční faktor Δ^9 -tetrahydrokanabinolu vztažený na kanabidiol;

0,691 – korekční faktor kyseliny Δ^9 -tetrahydrokanabinolové vztažený na kanabidiol;

0,877 – poměr molekulové hmotnosti Δ^9 -tetrahydrokanabinolu k molekulové hmotnosti kyseliny Δ^9 -tetrahydrokanabinolové.

Obsah celkového kanabidiolu v procentech, vyjádřený jako kanabidiol, se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{[A_1 + (A_3 \times 0,596 \times 0,877)] \times m_2 \times p \times 4}{A_2 \times m_1}$$

v němž značí:

A_1 – plochu píku kanabidiolu na chromatogramu zkoušeného roztoku (b);

A_2 – plochu píku kanabidiolu na chromatogramu porovnávacího roztoku (c);

A_3 – plochu píku kyseliny kanabidiolové na chromatogramu zkoušeného roztoku (b);

m_1 – hmotnost zkoušené rostlinné drogy použité k přípravě zkoušeného roztoku (a) v gramech;

m_2 – hmotnost *kanabidiolu pro konopí seté CRL* použitého k přípravě porovnávacího roztoku (a) v gramech;

p – obsah kanabidiolu v *kanabidiolu pro konopí seté CRL* v procentech;

0,596 – korekční faktor kyseliny kanabidiolové vztažený na kanabidiol;

0,877 – poměr molekulové hmotnosti kanabidiolu k molekulové hmotnosti kyseliny kanabidiolové.

SKLADOVÁNÍ

Ve vzduchotěsných obalech.

OZNAČOVÁNÍ

V označení na obalu se uvedou obsahy celkového tetrahydrokanabinolu a celkového kanabidiolu v procentech.

V označení na obalu se rovněž uvede, zda je rostlinná droga určena k předepisování pacientům jako léčivý přípravek.