

Kurzbericht Validierung

(VR-21-086-V1)

Identität von THC in

DEMECAN 30:01 Oktonia Cannabisextrakt

Mittels

CannaFix-ID[®] THC Schnelltest-Set

Inhaltsverzeichnis

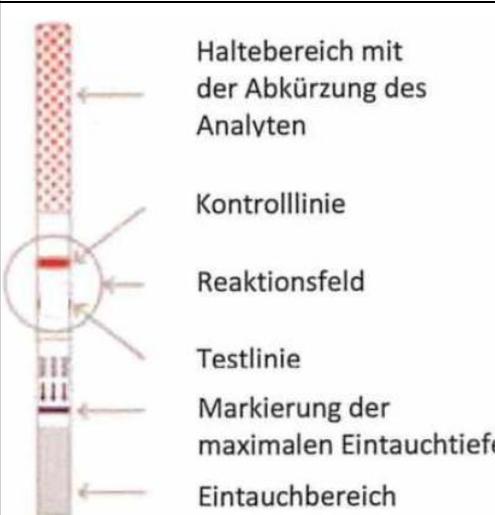
1	Zusammenfassung	2
2	Akzeptanzkriterien und Prüfparameter	2
3	Methode	3
4	Ergebnisse.....	5
5	Zusammenfassung und Bewertung	7

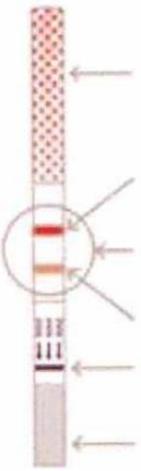
1 Zusammenfassung

Dieser Validierungsbericht beschreibt die Validierung einer Identitätsmethode zur Identifizierung von Δ^9 -THC in Cannabisextrakt gemäß ICH Q2(R1). Ziel der Validierung war der Nachweis über die Eignung des CannaFix-ID® THC Schnelltest-Set zur Identifizierung von Δ^9 -THC in DEMECAN 30:01 Oktonia (Cannabisextrakt mit 30 mg/ml Δ^9 -THC und ≤ 1 mg/ml CBD). Beim Testsystem handelt es sich um einen kompetitiven Immunoassay zur qualitativen Analyse. Die Probe wandert durch Kapillarkräfte den Teststreifen entlang. Dabei werden zusammen mit der Probe Antikörper-Konjugate entlang des Teststreifens transportiert. Enthält die Probe kein Δ^9 -THC binden die Konjugate in einem Bereich mit immobilisiertem Δ^9 -THC (Testlinienbereich) und bilden dort eine rote Linie (Δ^9 -THC: negativ). Enthält die Probe Δ^9 -THC werden die Konjugate zuvor vom in der Probe enthaltenen Δ^9 -THC abgesättigt und binden nicht im Testlinienbereich. In diesem Fall bildet sich dort keine Linie.

2 Akzeptanzkriterien und Prüfparameter

Tabelle 1: Übersicht: Studienumfang, Prüfparameter und Akzeptanzkriterien

Parameter	Beschreibung und Erwartungswerte	Akzeptanzkriterien
Eignungsprüfung der Methode (Identität Δ^9 -Tetrahydrocannabinol, (Δ^9 -THC)) & Robustheit der Methode	 <p>Haltebereich mit der Abkürzung des Analyten</p> <p>Kontrolllinie</p> <p>Reaktionsfeld</p> <p>Testlinie</p> <p>Markierung der maximalen Eintauchtiefe</p> <p>Eintauchbereich</p>	<p>Der Teststreifen zeigt eine positive Reaktion (Δ^9-THC positiv) mit Cannabisextrakt sowie mit einem Extraktionsmittel, welches mit einem Δ^9-THC Referenzstandard gespikt wurde. Der Teststreifen zeigt eine Linie im Kontrolllinienbereich und keine Linie im Testlinienbereich.</p> <p>Bei der Prüfung von Δ^9-THC-haltigen Cannabisextrakten und des Δ^9-THC Referenzstandards zeigt der Teststreifen eine Linie im Kontrolllinienbereich. Der Testlinienbereich zeigt keine Linie (jeweils n = 3).</p> <p>Robustheit: Prüfung von Δ^9-THC-haltigen Cannabisextrakten mit geringerer und größerer Probenmenge (jeweils n = 1).</p>

<p>Spezifität der Methode</p>	 <p>Haltebereich mit der Abkürzung des Analyten</p> <p>Kontrolllinie</p> <p>Reaktionsfeld</p> <p>Testlinie</p> <p>Markierung der maximalen Eintauchtiefe</p> <p>Eintauchbereich</p>	<p>Eine Blank Zubereitung (Extraktionsmittel ohne Δ^9-THC), sowie eine THC-freie Matrix (Kräuterteemischung), sowie eine CBD-Referenz zeigen eine negative Reaktion. Der Teststreifen zeigt eine Linie im Bereich C (Kontrolllinienbereich) sowie im Bereich T (Testlinienbereich). Die Intensität der Linie im Bereich T kann variieren.</p>	<p>Bei der Prüfung einer Blank Probe (n = 1) sowie Matrix, sowie CBD-Referenz zeigt der Teststreifen eine Linie im Kontrolllinienbereich sowie im Testlinienbereich (jeweils n = 3)</p>
<p>Anmerkung: Die Abbildungen wurden der Packungsbeilage des CannaFix-ID® THC Schnelltest-Set entnommen (siehe Kapitel 9 „Mitgeltende Unterlagen“).</p>			

3 Methode

Die Prüfungen wurden bei Raumtemperatur (15 – 25 °C) durchgeführt, d.h. Proben, Extraktionspuffer und Teststreifen hatten Raumtemperatur. Die Prüfungen sind gemäß der dem Schnelltest-Set beiliegenden Anleitung vorgenommen.

Blank (Extraktionspuffer): Der Teststreifen wurde direkt in den Extraktionspuffer eingetaucht und wie oben beschrieben ausgewertet (n = 1). Anhand dieser Probe wurde überprüft, ob der Teststreifen funktionsfähig ist. **Akzeptanzkriterien:** Testlinie: vorhanden; Kontrolllinie: vorhanden.

Matrix-Blank: 15 mg \pm 5 mg Kräuterteemischung (Probe 1: 13,66 mg; Probe 2: 13,68 mg; Probe 3: 13,43 mg) wurden wie oben beschrieben geprüft (n = 3) Anhand dieser Probe wurde überprüft, ob pflanzliche (Δ^9 -THC-freie) Matrixbestandteile das Testergebnis beeinflussen.

Akzeptanzkriterien: Testlinie: vorhanden; Kontrolllinie: vorhanden.

CBD-Referenz: 25,25 mg eines reinen CBD Isolats (kristallin) wurden in einen 5 ml Messkolben eingewogen. Das CBD Isolat wurde in 3 ml Ethanol 96% gelöst und der Messkolben mit Ethanol 96% auf Volumen aufgefüllt. Die Aufarbeitung der Probe (10 μ l) erfolgte wie oben beschrieben. Anhand dieser Probe wurde überprüft, ob eventuell im Produkt enthaltenes CBD das Testergebnis beeinflusst (n = 3).

Akzeptanzkriterien: Testlinie: vorhanden; Kontrolllinie: vorhanden.

THC-Referenz: 24,71 mg Dronabinol (Δ^9 -THC) ²⁾ wurden in einen 5 ml Messkolben eingewogen. Das Dronabinol wurde in 3 ml Ethanol 96% gelöst und der Messkolben mit Ethanol 96% auf Volumen aufgefüllt. Die Aufarbeitung der Probe (10 μ l) erfolgte wie oben beschrieben. Anhand dieser Probe wurde überprüft, ob der Teststreifen Δ^9 -THC positiv anzeigt (n = 3).

Akzeptanzkriterien: Testlinie: abwesend; Kontrolllinie: vorhanden.

DEMECAN 30:01: 2 Tropfen (Einmalpasteurpipetten 3 ml) DEMECAN 30:01 Extrakt sind wie oben beschrieben zu prüfen (n = 3). Anhand dieser Probe wurde überprüft, ob der Teststreifen in der Praxis mit Routineproben funktioniert (n = 3).

Akzeptanzkriterien: Testlinie: abwesend; Kontrolllinie: vorhanden.

Tabelle 2: Untersuchungslösungen

Probe	DEMECAN 30:01 Oktonia Cannabisextrakt	THC Referenz	Blank	Matrix reines MCT Öl (Trägeröl)	CBD Referenz
Δ^9 -THC -Gehalt	30 mg/ml	30 mg/ml	0 mg/ml	0 mg/ml	0 mg/ml
CBD-Gehalt	≤ 1 mg/ml	0 mg/ml	0 mg/ml	0 mg/ml	30 mg/ml
Probenvolumen	2 Tropfen	50 μ l	-	2 Tropfen	50 μ l
Extraktionspuffer	400 μ l	400 μ l	400 μ l	400 μ l	400 μ l
Anzahl	n = 3	n = 3	n = 1	n = 3	n = 3

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 3: Methoden-Robustheit (Probenmenge)

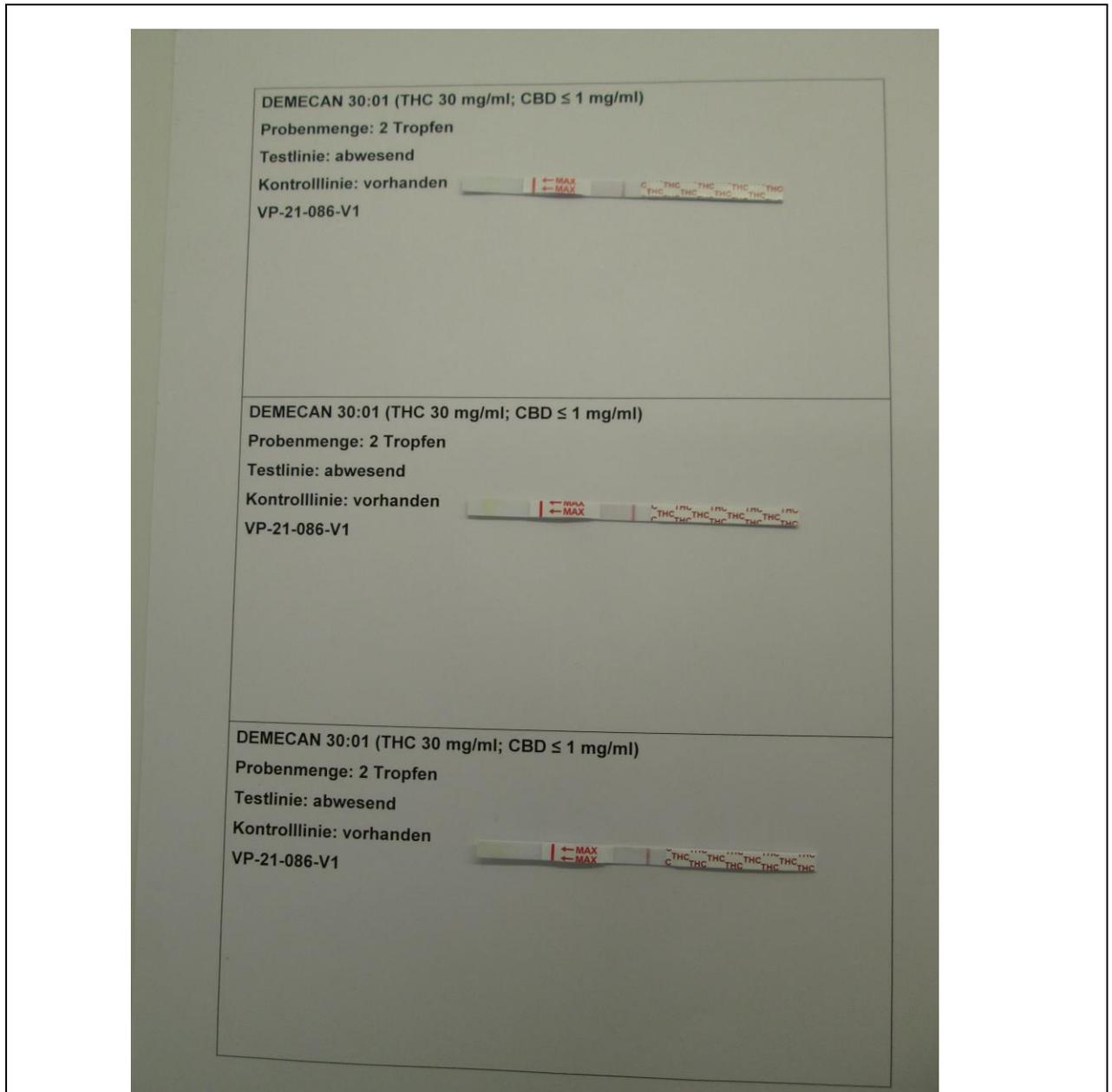
Probe	DEMECAN 30:01 Oktonia Cannabisextrakt	DEMECAN 30:01 Oktonia Cannabisextrakt
Δ^9 -THC -Gehalt	30 mg/ml	30 mg/ml
CBD-Gehalt	≤ 1 mg/ml	≤ 1 mg/ml
Probenvolumen	1 Tropfen	3 Tropfen
Extraktionspuffer	400 μ l	400 μ l
Anzahl	n = 1	n = 1

4 Ergebnisse

Die Validierungsergebnisse werden in der folgenden Tabelle dargestellt.

Tabelle 4: Ergebnisse und Fotodokumentation der Validierungsexperimente

Blank (Extraktionspuffer)	Testlinie	Kontrolllinie	Ergebnis THC	Validierung
Teststreifen:	Vorhanden	Vorhanden	Negativ	Bestanden
Blank (MCT-Öl)	Testlinie	Kontrolllinie	Ergebnis THC	Validierung
Teststreifen:	Vorhanden	Vorhanden	Negativ	Bestanden
CBD Referenz	Testlinie	Kontrolllinie	Ergebnis THC	Validierung
Teststreifen:	Vorhanden	Vorhanden	Negativ	bestanden
Dronabinol-Referenz	Testlinie	Kontrolllinie	Ergebnis THC	Validierung
Teststreifen:	Abwesend	Vorhanden	Positiv	Bestanden
Fortsetzung Tabelle 4 ...				



DEMECAN 30:01 Oktonia Cannabisextrakt	Testlinie	Kontrolllinie	Ergebnis THC	Validierung
Teststreifen:	Abwesend	Vorhanden	Positiv	bestanden
DEMECAN 30:01 Oktonia Cannabisextrakt (Robustheit, geringere Probenmenge)	Testlinie	Kontrolllinie	Ergebnis THC	Validierung
Teststreifen:	Abwesend	Vorhanden	Positiv	bestanden
DEMECAN 30:01 Oktonia Cannabisextrakt (Robustheit, größere Probenmenge)	Testlinie	Kontrolllinie	Ergebnis THC	Validierung
Teststreifen:	Abwesend	Vorhanden	Positiv	bestanden
Ende der Tabelle 4.				

5 Zusammenfassung und Bewertung

Die geprüften "CannaFix-ID® THC" Teststreifen sind, in Kombination mit CannaFix-ID® Extraktionspuffer inkl. Teströhrchen, zur Identifizierung von Δ^9 -THC in DEMECAN 30:01 Oktonia Cannabisextrakt (THC 30 mg/ml; CBD \leq 1 mg/ml) vollumfänglich geeignet.

Das Testverfahren hat sich in der Validierung als einfach in der Handhabung, schnell und sicher in der Auswertung gezeigt.

Dabei ist zu beachten, dass die Aussagekraft des Tests mit der Probenextraktion steht und fällt. Daher sind Teströhrchen (nach Zugabe der Proben in den Extraktionspuffer) gut zu schütteln, bis eine milchige Emulsion vorliegt. Die Extraktionszeit von 60 Sekunden reicht für diesen Vorgang vollkommen aus. Ein entsprechender Anwenderhinweis (... milchige Emulsion sollte sichtbar sein ...) steigert die Anwendersicherheit.

Es wurden alle Akzeptanzkriterien des Validierungsplanes eingehalten. Das Verfahren ist für DEMECAN 30:01 Oktonia Cannabisextrakt (THC 30 mg/ml; CBD \leq 1 mg/ml) validiert.