

Kurzbericht Validierung

(VR-21-038-V1)

Identität von THC und CBD in

Dronabinol (Cantourage)

Mittels

CannaFix-ID[®] THC Schnelltest-Set

Inhaltsverzeichnis

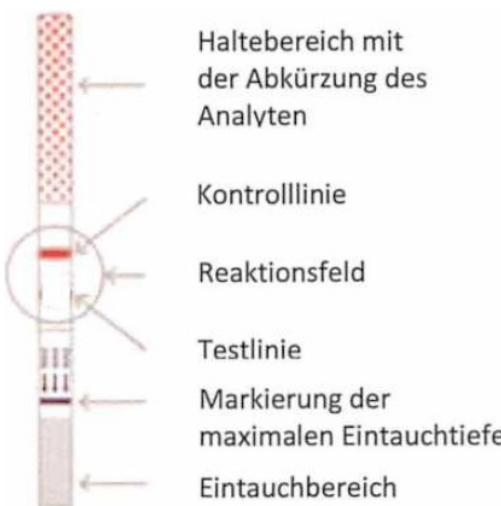
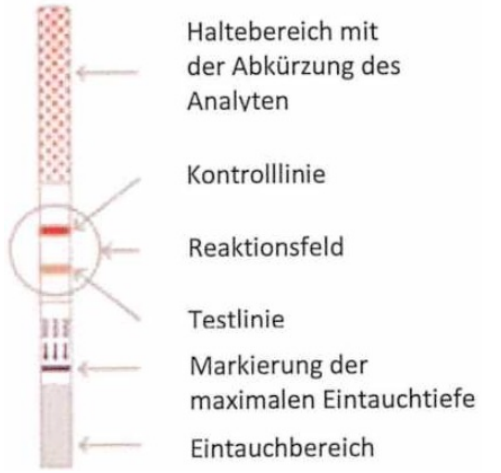
1	Zusammenfassung	2
2	Akzeptanzkriterien und Prüfparameter	2
3	Methode	3
4	Ergebnisse	4
5	Bewertung.....	5

1 Zusammenfassung

Dieser Validierungsbericht beschreibt die Validierung einer Identitätsmethode zur Identifizierung von Δ^9 -THC in Dronabinol gemäß ICH Q2(R1). Die Analysenmethode wurde im Labor von Wessling Münster validiert. Ziel der Validierung war der Nachweis über die Eignung des CannaFix-ID® THC Schnelltest-Set zur Identifizierung von Δ^9 -THC in Dronabinol. Beim Testsystem handelt es sich um einen kompetitiven Immunoassay zur qualitativen Analyse von Urinproben. 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	Azeptanzkriterien
Eignungsprüfung der Methode (Identität Δ^9 -Tetrahydrocannabinol, (Δ^9 -THC)) & Robustheit der Methode		<p>Der Teststreifen zeigt eine positive Reaktion (Δ^9-THC positiv) mit Dronabinol sowie mit einem Extraktionsmittel, welches mit einem Δ^9-THC Referenzstandard gespikkt wurde. Der Teststreifen zeigt eine Linie im Kontrolllinienbereich und keine Linie im Testlinienbereich.</p> <p>Bei der Prüfung von Dronabinol 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 Dronabinol-Proben mit geringerer und größerer Probenmenge (jeweils N = 1).</p>
Spezifität der Methode		<p>Eine Blank Zubereitung (Extraktionsmittel ohne Δ^9-THC), 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 CBD-Referenz zeigt der Teststreifen eine Linie im Kontrolllinienbereich sowie im Testlinienbereich (jeweils n = 3)</p>

Anmerkung: Die Abbildungen wurden der Packungsbeilage des CannaFIX-ID® THC 25 ng/ml Test (test strip) entnommen (siehe Kapitel 9 „Mitgeltende Unterlagen“).

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.

CBD-Referenz: 20,79 mg eines reinen CBD Isolats (kristallin) wurden in einen 20 ml Messkolben eingewogen. Das CBD Isolat wurde in 15 ml Ethanol 96% gelöst und der Messkolben mit Ethanol 96% auf Volumen aufgefüllt. Die Aufarbeitung der Probe (20 µl) 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: Zertifizierte Referenzlösung mit 1,000 mg/ml Δ^9 -THC (in Methanol).

Akzeptanzkriterien: Testlinie: abwesend; Kontrolllinie: vorhanden.

Dronabinol ¹⁾: Ca. 2 mg Dronabinol (Probe 1: 2,02 mg; Probe 2: 1,82 mg; Probe 3: 1,78 mg) wurden wie oben beschrieben geprüft (n = 3). Anhand dieser Probe wurde überprüft, ob der Teststreifen in der Praxis mit Routineproben funktioniert (n = 3).

Akzeptanzkriterien: Testlinie: abwesend; Kontrolllinie: vorhanden.

1) Dronabinol liegt als hochviskose Substanz vor, d.h. die Probe ist mit einem Föhn leicht zu erwärmen und ein kleiner Spot der Probe auf einer Pipettenspitze zu platzieren. Die Probenmenge liegt unterhalb der Mindestwaage der Waage. Daher wurde zur Abschätzung der Probenmenge eine Differenzwägung (Gefäß vor der Entnahme – Gefäß nach der Entnahme) durchgeführt, um die Probenmenge zu bestimmen.

Tabelle 2: Untersuchungslösungen für die Eignungsprüfung der Methode

Probe	Dronabinol	Δ^9 -THC Referenz	Blank	CBD Referenz
Δ^9 -THC -Gehalt	97,1%	1 mg/ml	0 mg/ml	0 mg/ml
CBD-Gehalt	< 1%	0 mg/ml	0 mg/ml	1 mg/ml
Probenmenge	Soll: ca. 2 mg Ist: Probe 1: 2,02 mg Probe 2: 1,82 mg Probe 3: 1,78 mg	20 µl	-	20 µl
Extraktionspuffer	400 µl	400 µl	400 µl	400 µl
Anzahl	n = 3	n = 3	n = 1	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 (Probenvolumen)

Probe	Dronabinol	Dronabinol
Δ^9 -THC -Gehalt	97,1%	97,1%
CBD-Gehalt	< 1%	< 1%
Probenmenge	Soll: ca 1 mg Ist: 0,90 mg	Soll: ca. 3 mg Ist: 2,69 mg
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 der Validierungsexperimente

Blank (Extraktionspuffer)	Testlinie	Kontrolllinie	Ergebnis THC	Validierung
Teststreifen:	Vorhanden	Vorhanden	Negativ	Bestanden
CBD Referenz	Testlinie	Kontrolllinie	Ergebnis THC	Validierung
Teststreifen:	Vorhanden	Vorhanden	Negativ	bestanden
THC-Referenz	Testlinie	Kontrolllinie	Ergebnis THC	Validierung
Teststreifen:	Abwesend	Vorhanden	Positiv	Bestanden



Dronabinol	Testlinie	Kontrolllinie	Ergebnis THC	Validierung
Teststreifen:	Abwesend	Vorhanden	Positiv	bestanden

Fortsetzung der Tabelle 4 ...

Dronabinol Robustheit Probe 1: geringere Probenmenge; Probe 2: größere Probenmenge	Testlinie	Kontrolllinie	Ergebnis THC	Validierung
Teststreifen:	Abwesend	Vorhanden	Positiv	bestanden
Ende der Tabelle 4.				

5 Bewertung

Die geprüften THC-Teststreifen „CannaFix-ID® THC“ sind, in Kombination mit CannaFix-ID® Extraktionspuffer inkl. Teströhrchen, zur Identifizierung von Δ^9 -THC in Dronabinol vollumfänglich geeignet.

Das Testverfahren hat sich in der Validierung als einfach in der Handhabung, schnell und sicher in der Auswertung gezeigt. Die Extraktion ist sorgfältig durchzuführen (60 Sekunden gut schütteln), da das Extrakt visuell keine Anhaltspunkte für eine vollständige Extraktion liefert.

Es wurden alle Akzeptanzkriterien des Validierungsplanes eingehalten. Das Verfahren ist für Dronabinol validiert.