

Kurzbericht Validierung

(VR-21-032-V1)

Identität von THC in

Cannabis Extrakten 25 mg/ml THC (Tilray THC25)

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	6


1

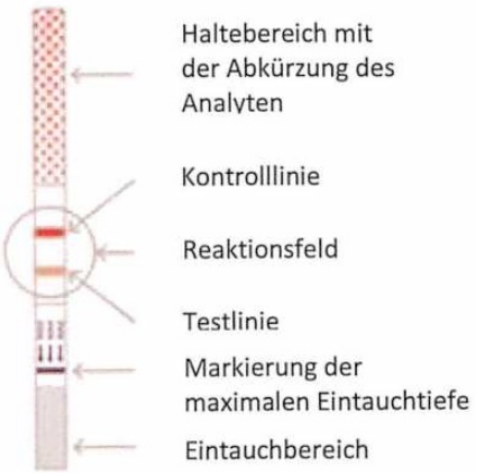
Zusammenfassung

Dieser Validierungsbericht beschreibt die Validierung einer Identitätsmethode zur Identifizierung von Δ^9 -THC im Cannabis Extrakt Tilray THC25 mit 25 mg/ml Δ^9 -THC gemäß ICH Q2(R1). Die Analysenmethode wurde im Labor von Wessling Münster validiert. Ziel der Validierung ist der Nachweis über die Eignung des CannaFix-ID® THC zur Identifizierung von Δ^9 -THC im Cannabis Extrakt. Der verwendete Cannabis Extrakt ist in MCT-Öl eingestellt. 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
<p>Eignungsprüfung der Methode (Identität Δ^9-Tetrahydrocannabinol, (Δ^9-THC)) & Robustheit 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>Der Teststreifen zeigt eine positive Reaktion (Δ^9-THC positiv) mit Cannabisextrakt sowie mit einem Extraktionsmittel, welches mit einem Δ^9-THC Referenzstandard gespikelt 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>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 ist direkt in den Extraktionspuffer einzutauchen und wie oben beschrieben auszuwerten (n = 1). Anhand dieser Probe wurde überprüft, ob der Teststreifen funktionsfähig ist.

Akzeptanzkriterien: Testlinie: vorhanden; Kontrolllinie: vorhanden.

Matrix-Blank: 2 Tropfen (Einmalpasteurpipetten 3 ml) wurden wie oben beschrieben geprüft (n = 3). Anhand dieser Probe wurde überprüft, ob die Matrix das Testergebnis beeinflusst.

Akzeptanzkriterien: Testlinie: vorhanden; Kontrolllinie: vorhanden.

CBD-Referenz: 25,41 mg eines reinen CBD Isolats (kristallin) wurden in einen 1 ml Messkolben eingewogen. Das CBD Isolat wurde in MCT-Öl gelöst und der Messkolben mit MCT-Öl auf Volumen aufgefüllt. Die Aufarbeitung der Probe (50 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: 25,64 mg Dronabinol (Δ^9 -THC) wurden in einen 1 ml Messkolben eingewogen. Das Dronabinol wurde in MCT-Öl gelöst und der Messkolben mit MCT-Öl auf Volumen aufgefüllt. Die Aufarbeitung der Probe (50 µl) erfolgte wie oben beschrieben. Anhand dieser Probe wurde überprüft, ob der Teststreifen Δ^9 -THC positiv anzeigt (n = 3).

Akzeptanzkriterien: Testlinie: abwesend; Kontrolllinie: vorhanden.

THC25 Extrakt: 2 Tropfen (Einmalpasteurpipetten 3 ml) THC25 Extrakt wurden wie oben beschrieben geprüft (n = 3). Anhand dieser Probe wurde überprüft, ob der Teststreifen in der Praxis mit Routineproben funktioniert.

Akzeptanzkriterien: Testlinie: abwesend; Kontrolllinie: vorhanden.

Tabelle 2: Untersuchungslösungen

Probe	Tilray THC25 Cannabis Extrakt	Dronabinol Referenz	Blank	Matrix reines MCT Öl (Trägeröl)	CBD Referenz
Δ^9 -THC -Gehalt	25 mg/ml	25 mg/ml	0 mg/ml	0 mg/ml	0 mg/ml
CBD-Gehalt	< 0,5 mg/ml	0 mg/ml	0 mg/ml	0 mg/ml	25 mg/ml
Probenvolumen ¹⁾	2 Tropfen ¹⁾	50 μ l	-	2 Tropfen	50 μ l
Extraktionspuffer ²⁾	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

1) Mit 42 Tropfen Cannabis Extrakt (THC25) aus einer Einwegpipette 3 ml wurde ein 1 ml Messkolben bis zur Volumenmarke aufgefüllt, d.h. 1 Tropfen Cannabis Extrakt (THC25) hat durchschnittlich ein Volumen von 23,8 μ l.
2) Mit 37 Tropfen Extraktionspuffer aus der Tropfflasche wurde ein 1 ml Messkolben bis zur Volumenmarke aufgefüllt, d.h. 1 Tropfen Extraktionspuffer hat durchschnittlich ein Volumen von 27,0 μ l.

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)

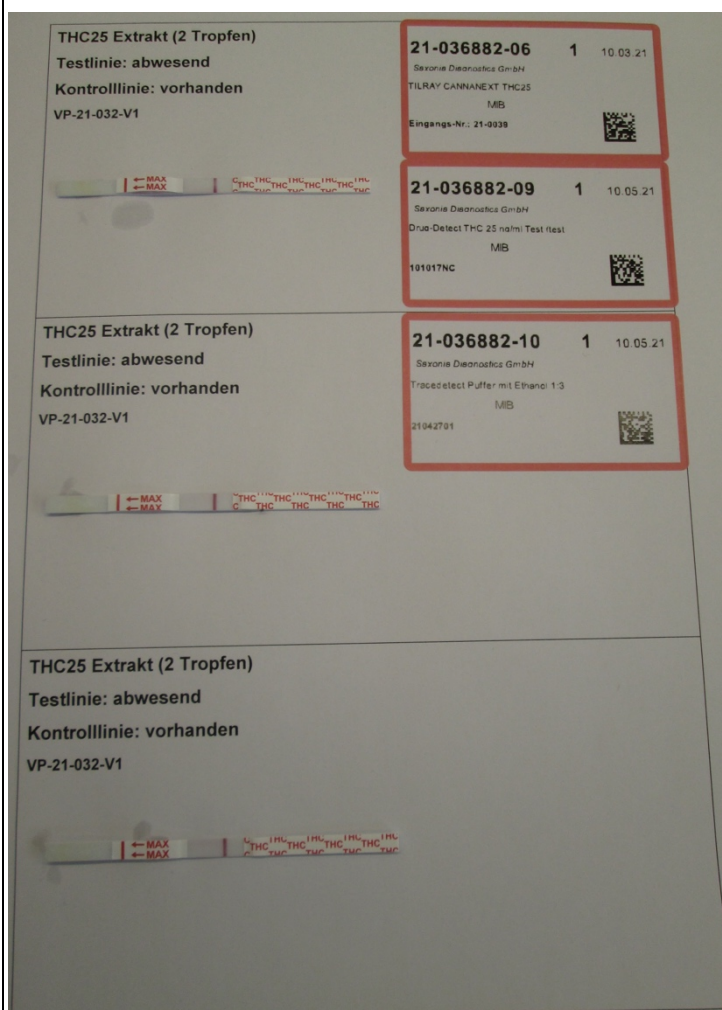
Probe	Tilray THC25 Cannabis Extrakt	Tilray THC25 Cannabis Extrakt
Δ^9 -THC -Gehalt	25 mg/ml	25 mg/ml
CBD-Gehalt	< 0,5 mg/ml	< 0,5 mg/ml
Probenvolumen	1 Tropfen	3 Tropfen
Extraktionspuffer	400 μ l	400 μ l
Anzahl	n = 3	n = 3

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



Tilray THC25 Extrakt	Testlinie	Kontrolllinie	Ergebnis THC	Validierung
Teststreifen:	Abwesend	Vorhanden	Positiv	bestanden
Tilray THC25 Extrakt (Robustheit, geringere Probenmenge)	Testlinie	Kontrolllinie	Ergebnis THC	Validierung
Teststreifen:	Abwesend	Vorhanden	Positiv	bestanden
Fortsetzung Tabelle 4 ...				

Tilray THC25 Extrakt (Robustheit, größere Probenmenge)	Testlinie	Kontrolllinie	Ergebnis THC	Validierung
Teststreifen:	Abwesend	Vorhanden	Positiv	bestanden
Ende von Tabelle 4.				

5 Zusammenfassung und Bewertung

Die geprüften THC-Teststreifen "CannaFix-ID® THC" sind, in Kombination mit CannaFix-ID® Extraktionspuffer inkl. Teströhrchen, zur Identifizierung von Δ^9 -THC im Cannabis Extrakte Tilray THC25 (25 mg/ml Δ^9 -THC) 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 steigt oder fällt. Daher sind die 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 den Cannabis Extrakt Tilray THC25 mit einem Gehalt von 25 mg/ml Δ^9 -THC validiert.