Kurzbericht Validierung

(VR-21-082-V1)

Identität von THC und CBD in

Vayamed 25/1 (THC 25 mg/ml; CBD ≤ 1 mg/ml)

Mittels

CannaFix-ID® THC/CBD Schnelltest-Set

Inhaltsverzeichnis

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

1 Zusammenfassung

Dieser Validierungsbericht beschreibt die Validierung einer Identitätsmethode zur Identifizierung von Δ^9-THC in Vayamed 25/1 (THC 25 mg/ml; CBD ≤ 1 mg/ml) (Cannabisextrakt mit 25 mg/ml Δ^9-THC und ≤ 1 mg/ml CBD) 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/CBD-Schnelltests zur Identifizierung von THC in Vayamed 25/1 (THC 25 mg/ml; CBD ≤ 1 mg/ml und Evaluierung der Nachweisgrenze von CBD. Der verwendete Cannabisextrakt ist in MCT-Öl eingestellt. Beim Testsystem handelt es sich um einen 2-stufigen Farbtest, welcher die strukturellen Unterschiede von Δ^9-THC und CBD ausnutzt.

2 Akzeptanzkriterien und Prüfparameter

Tabelle 1: Übersicht: Studienumfang, Prüfparameter und Akzeptanzkriterien

Parameter	Beschreibung und Erwartungswerte	Azeptanzkriterien
Eignungsprüfung der Methode: Identität, Δ^9-THC / CBD	<u>Probe: THC25:CBD ≤ 1</u> Stufe 1: Keine Farbe ➔ Identität CBD: Negativ Stufe 2: Bei deutlichem Unterschied zwischen der Farbe der Probe und der Farbe der CBD-Referenz ➔ Identität THC: Positiv <u>CBD-Referenz: CBD 5 mg/ml (in 2-Propanol)</u> Stufe 1:Violette Farbe ➔ Identität CBD: Positiv Stufe 2: Farbe dient als Referenz zur Beurteilung der Probe, der Spike-Proben und der THC-Referenz. <u>THC-Referenz: THC 25 mg/ml (in 2-Propanol)</u> Stufe 1:Keine Farbe ➔ Identität CBD: Negativ Stufe 2: Bei deutlichem Unterschied zwischen der Farbe der Probe und der Farbe der CBD-Referenz ➔ Identität THC: Positiv <u>MCT-THC-Spike: THC 25 mg/ml</u> Stufe 1:Keine Farbe ➔ Identität CBD: Negativ Stufe 2: Bei deutlichem Unterschied zwischen der Farbe der Probe und der Farbe der CBD-Referenz ➔ Identität THC: Positiv <u>Spike-Proben (+ CBD)</u> Probe THC25:CBD ≤ 1+ 0 mg/ml CBD (Σ ≤ 1 mg/ml CBD) Probe THC25:CBD ≤ 1+ 1 mg/ml CBD (Σ ≤ 2 mg/ml CBD) Probe THC25:CBD ≤ 1+ 2 mg/ml CBD (Σ ≤ 3 mg/ml CBD) Probe THC25:CBD ≤ 1+ 3 mg/ml CBD (Σ ≤ 4 mg/ml CBD) Probe THC25:CBD ≤ 1+ 4 mg/ml CBD (Σ ≤ 5 mg/ml CBD) Stufe 1: keine Farbe ➔ Identität CBD: Negativ [1)] Stufe 1: violette Farbe ➔ Identität CBD: Positiv [1)] Stufe 2: Bei deutlichem Unterschied zwischen der Farbe der Spike-Probe und der Farbe der CBD-Referenz ➔ Identität THC: Positiv 1) Es ist die Konzentration an CBD zu evaluieren, ab welcher die Identität von CBD nachweisbar ist.	<u>Probe: THC25:CBD ≤ 1 (n = 3)</u> Identität CBD: Negativ Identität THC: Positiv <u>CBD-Referenz (n = 1)</u> Identität CBD: Positiv <u>THC-Referenz (n = 1)</u> Identität CBD: Negativ Identität THC: Positiv <u>MCT-THC-Spike (n = 3):</u> Identität CBD: Negativ Identität THC: Positiv <u>Spike-Proben (+ CBD) je n = 1</u> Identität CBD: Negativ/Positiv [1)] Identität THC: Positiv 1) Evaluierung der Nachweisgrenze von CBD.

Fortsetzung der Tabelle 1…

Parameter	Beschreibung und Erwartungswerte	Azeptanzkriterien
Spezifität der Methode	Reagenzien-Blank Verdünner wird mit Farbreagenz gemischt und entwickelt. MCT-Blank MCT-Öl ohne CBD/THC) wird mit Verdünner (Stufe 1) und Farbreagenz (Stufe 2) geprüft.	Reagenzien-Blank (je n = 1) Identität CBD: Negativ Identität THC: Negativ MCT-Blank Identität CBD: Negativ Identität THC: Negativ
Robustheit	Probe: THC25:CBD ≤ 1 Die Probenmenge ist zu variieren (Normal: 100 µl). Kleinere Probenmenge (75 µl) Größere Probenmenge (125 µl)	Probe: THC25:CBD ≤ 1 (je n = 1) Identität CBD: Negativ Identität THC: Positiv
Ende der Tabelle 1.		

3 Methode

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

Tabelle 2: Untersuchungslösungen für die Eignungsprüfung der Methode

Probe	Vayamed 25/1 [1)]	Spike-Proben (+ CBD)	MCT-THC-Spike	CBD Referenz	THC-Referenz
Δ^9-THC -Gehalt	25 mg/ml	25 mg/ml	25 mg/ml	0 mg/ml	25 mg/ml
CBD-Gehalt	≤ 1 mg/ml	≤ 1 mg/ml ≤ 2 mg/ml ≤ 3 mg/ml ≤ 4 mg/ml ≤ 5 mg/ml	0 mg/ml	5 mg/ml	0 mg/ml
Probenvolumen	100 µl	100 µl Probe [1)] je 100 µl CBD-Ref-0 bis -4	100 µl THC-Stock 100 µl MCT-Öl	100 µl CBD-Ref-5	100 µl THC-Stock
Verdünner	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml
Anzahl	n = 3	je n =1	je n =3	n = 1	n = 1

1) Vayamed 25/1 (THC 25 mg/ml; CBD ≤ 1 mg/ml)

Tabelle 3: Untersuchungslösungen für Prüfung der Selektivität

Probe	Reagenzien-Blank	MCT-Blank (Trägeröl)
Δ^9-THC -Gehalt	0 mg/ml	0 mg/ml
CBD-Gehalt	0 mg/ml	0 mg/ml
Probenvolumen	-	100 µl
Verdünner	2 ml	2 ml
Anzahl	n = 1	n =1

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.

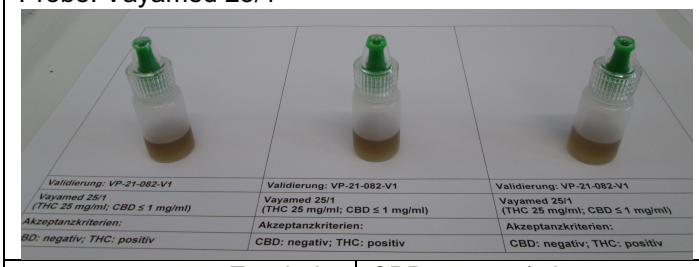
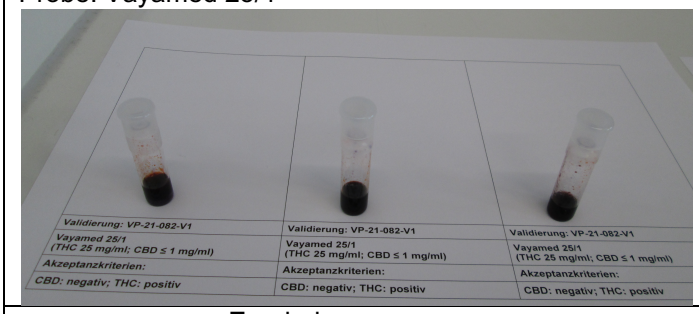
Tabelle 4: Methoden-Robustheit (Probenvolumen)

Probe	Vayamed 25/1 (THC 25 mg/ml; CBD ≤ 1 mg/ml)	Vayamed 25/1 (THC 25 mg/ml; CBD ≤ 1 mg/ml)
Δ^9-THC -Gehalt	25 mg/ml	25 mg/ml
CBD-Gehalt	≤ 1 mg/ml	≤ 1 mg/ml
Probenvolumen	75 µl	125 µl
Verdünner	2 ml	2 ml
Anzahl	n = 1	n = 1

4 Ergebnisse

Die Validierungsergebnisse werden in der folgenden Tabelle dargestellt.

Tabelle 5: Ergebnisse der Validierungsexperimente

Reagenzien-Blank			
Ergebnis:	CBD: negativ	THC: negativ	Validierung: bestanden
Matrix-Blank:			
Ergebnis:	CBD: negativ	THC: negativ	Validierung: bestanden
CBD-Referenz			
Ergebnis:	CBD: positiv	THC: negativ	Validierung: bestanden
THC-Referenz			
Ergebnis:	CBD: negativ	THC: positiv	Validierung: bestanden
MCT-THC-Spike			
Ergebnis:	CBD: negativ		Validierung: bestanden
MCT-THC-Spike			
Ergebnis:		THC: positiv	Validierung: bestanden
Probe: Vayamed 25/1 			
Ergebnis:	CBD: < 5 mg/ml		Validierung: bestanden
Anmerkung: Das Extrakt in der Verdünnerflasche war grünlich/bräunlich gefärbt. Ein violetter Farbton war visuell nicht wahrnehmbar.			
Probe: Vayamed 25/1 			
Ergebnis:		THC: positiv	Validierung: bestanden
Spike-Proben (Vayamed 25/1 + CBD):			
Ergebnis:	CBD: ab Stufe ≤ 5 mg/ml		Validierung: bestanden
Spike-Proben (Vayamed 25/1 + CBD):			
Ergebnis:		THC: positiv	Validierung: bestanden
Robustness: Vayamed 25/1			
Ergebnis:	CBD: < 5 mg/ml		Validierung: bestanden
Robustness: Vayamed 25/1			
Ergebnis:		THC: positiv	Validierung: bestanden
Ende der Tabelle 5.			

5 Bewertung

Der geprüfte CannaFIX-ID® THC/CBD Test ist zur Identifizierung von Δ^9-THC in Vayamed 25/1 (THC 25 mg/ml; CBD ≤ 1 mg/ml) vollumfänglich geeignet. Die Prüfung der Abwesenheit von CBD wird durch die Eigenfarbe des Cannabisextraktes, welche die Lösung in der Verdünnerflasche grünlich/bräunlich färbt,

erschwert. Die Evaluierungsexperimenten für den CBD-Nachweis haben ergeben, dass eine Identifikation ab ca. 5 mg/ml in dem geprüften Produkt möglich wäre bzw., dass das Produkt ca. < 5 mg/ml CDB enthält. Eine Prüfung auf Abwesenheit auf CBD ist also nicht möglich, da die Produkteigenfärbung dies bei niedrigeren CBD-Konzentrationen verhindert.

Der Nachweis von THC in Δ^9-THC-haltigen Proben (Vayamed 25/1 (THC 25 mg/ml; CBD ≤ 1 mg/ml), Probe + CBD, THC-Spike, Robustness) gelingt einfach, sicher und schnell. Die tief-violette Farbe der entwickelten Ampullen ist absolut eindeutig für die Identifizierung von THC.

Es wurden alle Akzeptanzkriterien des Validierungsplanes eingehalten. Das Verfahren ist für Vayamed 25/1 (THC 25 mg/ml; CBD ≤ 1 mg/ml) validiert.