

Kurzbericht Validierung

(VR-22-008-V2)

Identität von THC und CBD in

Vayamed Dronabinol

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 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/CBD-Schnelltests zur Identifizierung von Δ^9 -THC in Vayamed Dronabinol und die Evaluierung der Nachweisgrenze von CBD. 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: Dronabinol</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>Probe: Dronabinol (n = 3)</u> Identität CBD: Negativ 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>CBD-Referenz (n = 1)</u> Identität CBD: Positiv
	<u>THC-Referenz: 100 μl THC 50 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>THC-Referenz (n = 1)</u> Identität CBD: Negativ Identität THC: Positiv
	<u>THC-Nachweisgrenze: 10 μl THC 50 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>THC-Nachweisgrenze (n = 1)</u> Identität CBD: Negativ Identität THC: Positiv
	<u>CBD-Spike-Proben</u> THC-Referenz (100 μ l) + 100 μ l 2-Propanol THC-Referenz (100 μ l) + 1 mg/ml CBD (100 μ l) THC-Referenz (100 μ l) + 2 mg/ml CBD (100 μ l) THC-Referenz (100 μ l) + 3 mg/ml CBD (100 μ l) THC-Referenz (100 μ l) + 4 mg/ml CBD (100 μ l) THC-Referenz (100 μ l) + 5 mg/ml CBD (100 μ l)	<u>CBD-Spike-Proben je n = 1</u> Identität CBD: Negativ/Positiv ¹⁾ Identität THC: Positiv
	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) Evaluierung der Nachweisgrenze von CBD.
Fortsetzung der Tabelle 1...		

Parameter	Beschreibung und Erwartungswerte	Azeptanzkriterien
Spezifität der Methode	<u>Reagenzien-Blank</u> Verdünner wird mit Farbreagenz gemischt und entwickelt.	<u>Reagenzien-Blank (je n = 1)</u> Identität CBD: Negativ Identität THC: Negativ
Robustheit	<u>Probe: Dronabinol</u> Die Probenmenge ist zu variieren (Normal: 5 mg). Kleinere Probenmenge (1 mg bis 3 mg) Größere Probenmenge (7 mg bis 10 mg)	<u>Probe: Dronabinol</u> 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 Dronabinol	CBD-Spike-Proben	CBD Referenz	THC-Referenz	THC-Nachweisgrenze
Δ^9 -THC	(Wirkstoff: $\geq 95\%$ Δ^9 -THC)	50 mg/ml	0 mg/ml	50 mg/ml	50 mg/ml
CBD-Gehalt	$\leq 1.0\%$	0 mg/ml 1 mg/ml 2 mg/ml 3 mg/ml 4 mg/ml 5 mg/ml	5 mg/ml	0 mg/ml	0 mg/ml
Probenmenge	5 mg	100 μ l THC-Stock je 100 μ l CBD-Ref-0 bis -4	100 μ l CBD-Ref-5	100 μ l THC-Stock	10 μ l THC-Stock
Verdünner	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml
Anzahl	n = 3	je n = 1	n = 1	n = 1	n = 1

Tabelle 3: Untersuchungslösungen für Prüfung der Selektivität

Probe	Reagenzien-Blank	2-Propanol-Blank
Δ^9 -THC -Gehalt	0 mg/ml	0 mg/ml
CBD-Gehalt	0 mg/ml	0 mg/ml
Probenvolumen	-	100 μ l
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 Dronabinol	Vayamed Dronabinol
Δ^9 -THC -Gehalt	(Wirkstoff: $\geq 95\%$ Δ^9 -THC)	(Wirkstoff: $\geq 95\%$ Δ^9 -THC)
CBD-Gehalt	$\leq 1.0\%$	$\leq 1.0\%$
Probenmenge ¹⁾	1 bis 3 mg	7 bis 10 mg
Verdünner	2 ml	2 ml
Anzahl	n = 1	n = 1

¹⁾ Dronabinol liegt als hochviskose Substanz vor. Daher ist eine exakte Entnahme/Einwaage relativ schwierig. Mengen unter 10 mg liegen unter der Mindesteinwaage der zur Verfügung stehenden Waagen. Für Identitätstests ist die Richtigkeit der Waage für Einwaagen zwischen 1 und 10 mg ausreichend, da nur eine qualitative Aussage (Identitätstest) benötigt wird.

4 Ergebnisse

Die Validierungsergebnisse werden in der folgenden Tabelle dargestellt.

Tabelle 5: Ergebnisse der Validierungsexperimente

Reagenzien-Blank			
Ergebnis:	CBD: negativ	THC: negativ	Validierung: bestanden
2-Propanol-Blank			
Ergebnis:	CBD: negativ	THC: negativ	Validierung: bestanden
CBD-Referenz (100 µl 5 mg/ml CBD)			
Ergebnis:	CBD: positiv	THC: negativ	Validierung: bestanden
THC-Nachweisgrenze (10 µl 50 mg/ml THC), entspricht 0,5 mg THC			
Ergebnis:	CBD: negativ	THC: positiv	Validierung: bestanden
THC-Referenz (100 µl 50 mg/ml Δ ⁹ -THC)			
Ergebnis:	CBD: negativ	THC: positiv	Validierung: bestanden
CBD-Spike			
Ergebnis:	CBD: positiv ab CBD-Spike 1 mg/ml		Validierung: bestanden
CBD-Spike			
Ergebnis:		THC: positiv	Validierung: bestanden
THC-Referenz ist intensiv violett gefärbt. CBD-Referenz ist orange-rot gefärbt. Bereits kleine THC-Anteile in CBD führen zu einer braunen Mischfarbe.			
Probe: Vayamed Dronabinol			
			
Ergebnis:	CBD: negativ		Validierung: bestanden
Probe: Vayamed Dronabinol			
			
Ergebnis:		THC: positiv	Validierung: bestanden
Robustness: Vayamed Dronabinol			
Ergebnis:	CBD: negativ		Validierung: bestanden
Robustness: Vayamed Dronabinol			
Ergebnis:		THC: positiv	Validierung: bestanden
Ende der Tabelle 5.			

5 Bewertung

Der geprüfte CannaFIX-ID® THC/CBD Test ist zur Identifizierung von THC in Vayamed Dronabinol vollumfänglich geeignet. CBD war in der Verdünnerflasche ab 1 mg/ml CBD-Spike visuell nachweisbar. Somit ist CBD in einem Mengen(Massen)verhältnis von 1 Teil CBD zu 50 Teilen THC nachweisbar. Das Testverfahren hat sich in der Validierung als einfach in der Handhabung, schnell und sicher in der Auswertung gezeigt.

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