Saxonia Diagnostics GmbH

Kurzbericht Validierung

(VR-21-060-V1)

Identität von THC und CBD in

CannabiStada® Extrakt THC1/CBD25

Mittels

CannaFix-ID® THC/CBD Schnelltest-Set

Inhaltsverzeichnis

1 Zusammenfassung 2
2 Akzeptanzkriterien und Prüfparameter 2
3 Methode 3
4 Ergebnisse 5
5 Bewertung 6

1 Zusammenfassung

Dieser Kurzbericht beschreibt die Validierung einer Identitätsmethode zur Identifizierung von Cannabidiol (CBD) in CannabiStada® Extrakt THC1/CBD25 (Cannabisextrakt mit 1 mg/ml Δ^9-THC und 25 mg/ml CBD) gemäß ICH Q2(R1). Ziel der Validierung ist der Nachweis über die Eignung des CannaFix-ID® THC/CBD-Schnelltests zur Identifizierung von CBD in CannabiStada® Extrakt THC1/CBD25 und die Evaluierung der Nachweisgrenze von Δ^9 THC. 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. Zur Evaluierung der Konzentration, ab welcher eine sichere Identifizierung von THC möglich ist, wurden bei der Validierung Spiking-Experimente durchgeführt, in welchen der Probe (CannabiStada® Extrakt THC1/CBD25) Δ^9-THC in 1 mg/ml-Schritten zugesetzt wurde.

2 Akzeptanzkriterien und Prüfparameter

Tabelle 1: Übersicht: Studienumfang, Prüfparameter und Akzeptanzkriterien

Parameter	Beschreibung und Erwartungswerte	Akzeptanzkriterien
Eignungsprüfung der Methode: Identität, Δ^9-THC / CBD	<u>Probe: THC1:CBD25</u> Stufe 1: Violette Farbe ➔ Identität CBD: Positiv Stufe 2: Bei deutlichem Unterschied zwischen der Farbe der Probe und der Farbe der CBD-Referenz ➔ Identität THC: Positiv	<u>Probe: THC1:CBD25 (n = 3)</u> Identität CBD: Positiv
	<u>CBD-Referenz: CBD 25 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-Spike-MCT-Öl</u> 1 mg/ml Δ^9-THC 2 mg/ml Δ^9-THC 3 mg/ml Δ^9-THC 4 mg/ml Δ^9-THC 5 mg/ml Δ^9-THC Es ist die Konzentration an Δ^9-THC zu evaluieren, ab welcher die Identität von Δ^9-THC nachweisbar ist. 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-Spike-MCT-Öl (je n = 1)</u> Identität CBD: Negativ Identität THC: Positiv [1)]
	<u>Spike-Proben (+ THC)</u> Probe THC1:CBD25 + 1 mg/ml Δ^9-THC (Σ 2 mg/ml Δ^9-THC) Probe THC1:CBD25 + 2 mg/ml Δ^9-THC (Σ 3 mg/ml Δ^9-THC) Probe THC1:CBD25 + 3 mg/ml Δ^9-THC (Σ 4 mg/ml Δ^9-THC) Probe THC1:CBD25 + 4 mg/ml Δ^9-THC (Σ 5 mg/ml Δ^9-THC) Es ist die Konzentration an Δ^9-THC zu evaluieren, ab welcher die Identität von Δ^9-THC nachweisbar ist. Stufe 1: Keine Farbe ➔ Identität CBD: Positiv Stufe 2: Bei deutlichem Unterschied zwischen der Farbe der Probe und der Farbe der CBD-Referenz ➔ Identität THC: Positiv	<u>Spike-Proben (+ THC)</u> Identität CBD: Negativ Identität THC: Positiv [1)] 1) Evaluierung der Nachweisgrenze.
Fortsetzung der Tabelle 2 …		

Parameter	Beschreibung und Erwartungswerte	Akzeptanzkriterien
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: NegativIdentität THC Negativ MCT-Blank Identität CBD: Negativ Identität THC: Negativ
Robustheit	Probe: THC1:CBD25 Die Probenmenge ist zu variieren (Normal: 100 µl). Kleinere Probenmenge (75 µl) Größere Probenmenge (125 µl)	Probe: THC1:CBD25 (je n = 1) Identität CBD: Positiv
Ende der Tabelle 2.		

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	CannabiStada® Extrakt THC1/CBD25	THC-Spike-MCT-Öl	THC-Spike-Proben	CBD Referenz
Δ^9-THC -Gehalt	1 mg/ml	1 mg/ml 2 mg/ml 3 mg/ml 4 mg/ml 5 mg/ml	1 mg/ml 2 mg/ml 3 mg/ml 4 mg/ml 5 mg/ml	0 mg/ml
CBD-Gehalt	25 mg/ml	je 0 mg/ml	je 25 mg/ml	25 mg/ml
Probenvolumen	100 µl	100 µl MCT-Öl 100 µl THC-Ref	100 µl Probe [1)] 100 µl THC-Ref	100 µl
Verdünner	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml
Anzahl	n = 3	je n =1	je n =1	n = 1
1) CannabiStada® Extrakt THC1/CBD25				

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 durchgeführten, um sicherzustellen, dass die Methode für diese Variation robust genug ist.

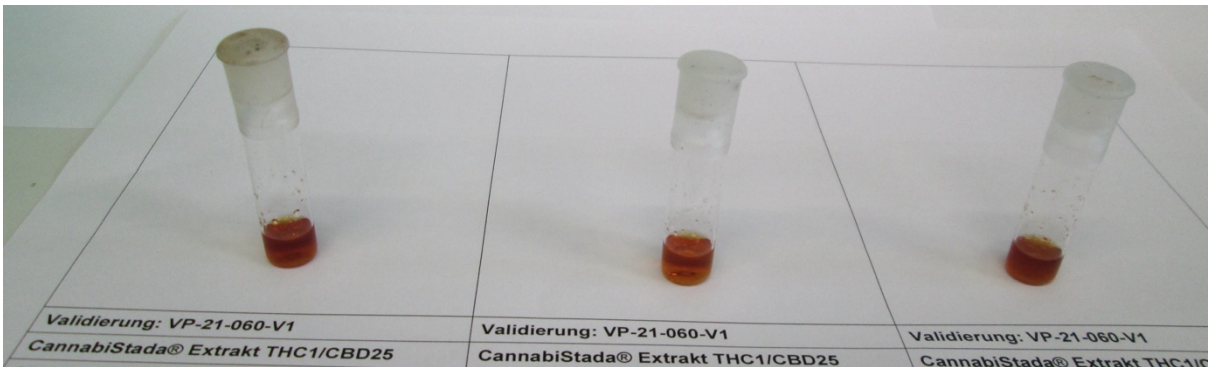
Tabelle 4: Methoden-Robustheit (Probenvolumen)

Probe	**CannabiStada® Extrakt THC1/CBD25**	**CannabiStada® Extrakt THC1/CBD25**
Δ^9-THC -Gehalt	1 mg/ml	1 mg/ml
CBD-Gehalt	25 mg/ml	25 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-Spike-MCT-Öl			
Ergebnis:	CBD: negativ		Validierung: bestanden
THC-Spike-MCT-Öl			
Ergebnis:		THC: positiv (bei allen Konzentrationen von 1 mg/ml bis 5 mg/ml)	Validierung: bestanden
THC-Spike-Proben			
Ergebnis:	CBD: positiv		Validierung: bestanden
THC-Spike-Proben			
Ergebnis:		THC: ab 3 mg/ml positiv	Validierung: bestanden
Probe: CannabiStada® Extrakt THC1/CBD25			
Ergebnis:	CBD: positiv		Validierung: bestanden
			
CannabiStada® Extrakt THC1/CBD25			
Ergebnis:		THC: negativ	Validierung: bestanden
Robustness: CannabiStada® Extrakt THC1/CBD25			
Ergebnis:	CBD: positiv		Validierung: bestanden
Robustness: CannabiStada® Extrakt THC1/CBD25			
Ergebnis:		THC: negativ	Validierung: bestanden
Ende der Tabelle 5.			

5 Bewertung

Der geprüfte CannaFix-ID® THC/CBD Test ist zur Identifizierung von CBD in CannabiStada® Extrakt THC1/CBD25 sicher geeignet. Die Spiking-Experimente haben gezeigt, dass bei einer CBD-Konzentration von 25mg/ml eine Identifizierung von Δ^9-THC ab einer Konzentration von 3mg/ml möglich ist. Also bei einem Konzentrationsverhältnis von einem Teil Δ^9-THC zu ca. acht Teilen CBD. Liegt Δ^9-THC in MCT-Öl alleine vor, dann war eine Identifizierung von Δ^9-THC ab der kleinsten Konzentration von 1mg/ml sicher möglich. 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 die Identifizierung von CBD in CannabiStada® Extrakt THC1/CBD25 mit einem Gehalt von 1 mg/ml Δ^9-THC und 25 mg/ml CBD validiert.