

Aus der Universitätsklinik und Poliklinik für Dermatologie und Venerologie der Medizinischen  
Fakultät an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg  
(Kommissarischer Direktor: apl. Prof. Dr. med. habil. Johannes Wohlrab)

**Der Einfluss von topisch appliziertem Salbeiextrakt (*Salvia officinalis*)  
auf die Barrierefunktion des Stratum corneum und die Irritation der  
menschlichen Haut**

Dissertation  
zur Erlangung des akademischen Grades  
Doktor der Medizin (Dr. med.)

vorgelegt  
der Medizinischen Fakultät  
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von Behrend, Jana  
geboren am 16. Oktober 1985 in Berlin

Betreuer: apl. Prof. Dr. med. habil. Johannes Wohlrab  
Gutachter: apl. Prof. Dr. med. habil. Johannes Wohlrab  
Prof. Dr. Christoph Schempp  
Prof. Dr. Dr. Reinhard Neubert

26.01.2017  
06.11.2017



## Referat

Die vorliegende Arbeit untersucht den Einfluss von topisch applizierten salbeiextrakthaltigen hydrophilen und lipophilen Cremegrundlagen auf die Barrierefunktion und die Irritation der menschlichen Haut im zeitlichen Verlauf.

Eine Schädigung der Hautbarriere führt zu einer objektivierbaren Austrocknung der Haut. Dieses Symptom hat eine hohe Prävalenz in der Bevölkerung, stellt für die Betroffenen ein kosmetisch und medizinisch relevantes Problem dar und kann die Lebensqualität reduzieren.

*Salvia officinalis* L. enthält antioxidativ und antiinflammatorisch wirksame Inhaltsstoffe. Daher kann die Verwendung eines standardisierten Extrakts in einer halbfesten Formulierung zur Linderung der Symptome von trockener Haut beitragen.

Die Studie wurde randomisiert, doppelblind und vehikelkontrolliert durchgeführt. Nach artifizieller Schädigung definierter Hautareale durch 0,5% Natriumlaurylsulfat (SLS) über 24 Stunden, erfolgte die Untersuchung der Prüfpräparate (hydrophile Grundlage mit 1%, 4%, 8% Salbeiextrakt und lipophile Grundlage mit 3%, 12%, 25% Salbeiextrakt), sowie des hydrophilen und lipophilen Vehikels an 15 Probanden. Hierzu wurden die Prüfpräparate und die Vehikel alle 12 Stunden über einen Studienzeitraum von 6 Tagen appliziert. Hauptwirksubstanzen waren die sekundären Pflanzenstoffe Rosmarinsäure und Luteolin-7-glucosid. Als Zielparameter für die Barriерerestitution der Haut wurden der transepidermale Wasserverlust und die Hornschichthydratation gemessen. Als Zielparameter für die Irritation der Haut diente die Rötung der Haut. Dabei wurden validierte nicht-invasive Messmethoden angewendet.

Die hydrophilen salbeiextrakthaltigen Prüfpräparate erhöhten die Hornschichthydratation im Studienverlauf signifikant. Ein konzentrationsabhängiger Effekt bestand nicht. Der Effekt ist wahrscheinlich auf den Vehikeleffekt zurückzuführen. Die Rötung der Haut und der transepidermale Wasserverlust wurden durch die hydrophilen Prüfpräparate im Vergleich zur unbehandelten Haut nicht signifikant reduziert. Die lipophilen salbeiextrakthaltigen Prüfpräparate verringern weder den transepidermalen Wasserverlust noch die Rötung der Haut oder führen zu einer signifikanten Steigerung der Hornschichthydratation. Alle verwendeten Präparate wurden von den Probanden gut vertragen; unerwünschte Ereignisse traten nicht auf.

Im Rahmen dieser Studie hatte der verwendete Salbeiextrakt keinen Effekt auf die Barriерerestitution und die Irritation der Haut. Die hydrophile Cremegrundlage steigerte den Feuchtigkeitsgehalt der Hornschicht stärker als die lipophile Cremegrundlage. Aufgrund des unbestritten großen antioxidativen und antiinflammatorischen Potentials bestimmter Inhaltsstoffe des Salbeis sind weitere Untersuchungen zur epikutanen Applikation von standardisierten Salbeiextrakten lohnenswert.

Behrend, Jana: Der Einfluss von topisch appliziertem Salbeiextrakt (*Salvia officinalis*) auf die Barriерerestitution und die Irritation der menschlichen Haut.  
Halle (Saale), Univ., Med. Fak., Diss., 77 Seiten, 2017

# Inhaltsverzeichnis

	Seite
<b>Verzeichnis der Abkürzungen und Symbole</b>	<b>III</b>
<b>1 Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1 Aufbau und Funktion der menschlichen Haut	1
1.2 Die geschädigte Hautbarriere als Ursache und Folge trockener Haut	3
1.3 Symptome trockener Haut	5
1.3.1 Topische Behandlung der Haut	6
1.4 Die Verwendung von Pflanzenextrakten in der Hautpflege	7
1.5 Die traditionelle Verwendung des Salbeis	8
1.5.1 Orale Anwendungen	8
1.5.2 Anwendungen mit Wirkungen auf die Haut	9
1.6 Biologisch relevante Inhaltsstoffe des Salbeis	9
1.6.1 Ätherische Öle	9
1.6.2 Aromatische Verbindungen	10
1.7 Biologische Einflüsse der Inhaltsstoffe des Salbeis	10
1.7.1 Krebshemmende und antimutagene Wirkung	10
1.7.2 Senkender Einfluss auf den Blutglukosespiegel	10
1.7.3 Fördernder Einfluss auf die Gedächtnisleistung und die Stimmung	11
1.7.4 Schützende Wirkung auf den Magen	11
1.7.5 Agonist an Peroxisomen-Proliferator-aktivierten-Rezeptoren (PPAR)	11
1.7.6 Antibakterielle Wirkung	12
1.7.7 Antioxidative und antiinflammatorische Wirkung	12
1.8 Toxizität der Inhaltsstoffe	13
<b>2 Zielstellung</b>	<b>15</b>
<b>3 Material und Methoden</b>	<b>16</b>
3.1 Studiendesign	16
3.2 Zielparameter	16
3.3 Prüfpopulation	16
3.3.1 Probandenrekrutierung	16
3.3.2 Einschlusskriterien	17
3.3.3 Ausschlusskriterien	17
3.4 Studienmaterial	18
3.4.1 Natriumlaurylsulfat (SLS)-Patches	18
3.4.2 Prüfpräparate	18
3.4.3 Ethische und rechtliche Aspekte	20
3.4.4 Randomisierung und Verblindung	20
3.4.5 Ablauf der Studie	20
3.5 Untersuchungsmethoden	23
3.5.1 Tewametrie	23
3.5.2 Corneometrie	24
3.5.3 Colorimetrie	25

3.6	Statistische Analyse	27
<b>4</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>28</b>
4.1	Studienpopulation	28
4.2	Wirkung von SLS auf die Irritation und die Barrierefunktion der Haut	28
4.2.1	Tewametrie	28
4.2.2	Corneometrie	29
4.2.3	Colorimetrie	30
4.3	Wirkung der hydrophilen Prüfpräparate auf die Irritation und die Barrierefunktion der Haut	32
4.3.1	Tewametrie	32
4.3.2	Corneometrie	35
4.3.3	Colorimetrie	37
4.4	Wirkung der lipophilen Prüfpräparate auf die Irritation und die Barrierefunktion der Haut	39
4.4.1	Tewametrie	39
4.4.2	Corneometrie	42
4.4.3	Colorimetrie	44
4.5	Wirkung der Vehikel auf die Barrierefunktion und die Irritation der Haut	46
4.5.1	Tewametrie	46
4.5.2	Corneometrie	47
4.5.3	Colorimetrie	49
4.6	Unerwünschte Ereignisse	51
<b>5</b>	<b>Diskussion</b>	<b>53</b>
5.1	Die Studienpopulation	53
5.2	Der Einfluss des Salbeiextrakts und der Vehikel auf die Barriererestitution und die Irritation der Haut	54
5.2.1	Der Einfluss des Salbeiextrakts und der Vehikel auf den transepidermalen Wasserverlust	54
5.2.2	Der Einfluss des Salbeiextrakts und der Vehikel auf die Hornschichthydratation	57
5.2.3	Der Einfluss des Salbeiextrakts und der Vehikel auf die Irritation der Haut	59
5.3	Fazit und Ausblick	64
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>66</b>
<b>7</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>68</b>
<b>8</b>	<b>Thesen</b>	<b>75</b>
	<b>Lebenslauf</b>	<b>VI</b>
	<b>Selbständigkeitserklärung</b>	<b>VII</b>
	<b>Erklärung über frühere Promotionen</b>	<b>VII</b>
	<b>Hinweise auf Publikationen von Ergebnissen dieser Arbeit</b>	<b>VIII</b>
	<b>Danksagung</b>	<b>VIII</b>

## Verzeichnis der Abkürzungen und Symbole

<b>Abkürzung</b>	<b>Bedeutung</b>
Abb.	Abbildung
°C	Grad Celsius
ca.	Circa
CE	Cornified envelope
CRF	Case Report Form
DMARD	Disease-modifying antirheumatic drugs
EEMCO	European Expert Group on Efficacy Measurement of Cosmetics and Other Topical Products
h	Stunde
g/m <sup>2</sup> h	Gramm pro Quadratmeter pro Stunde
ICH-GCP	International Conference on Harmonisation Good Clinical Practice
µm	Mikrometer
mm	Millimeter
n. Chr.	nach Christus
nl/ml	Nanoliter pro Milliliter
nm	Nanometer
NMF	Natural moisturizing factor
NO	Stickoxid
NSAR	Nichtsteroidale Antiphlogistika
OTC	Over-the-counter
O/W	Öl-in-Wasser
ROS	Reaktive Sauerstoffspezies
Salvia officinalis L.	Salvia officinalis Linné
SC	Stratum corneum
SLS	Sodium lauryl sulfate (Natriumlaurylsulfat)
Tab.	Tabelle
TEWL	Transepidermaler Wasserverlust
u.a.	unter anderem
v. Chr.	vor Christus
Vgl.	Vergleiche
Vs.	Versus
W/O	Wasser-in-Öl
z.B.	zum Beispiel
ZKSD	Zentrum für klinische Studien Dermatologie

# 1 Einleitung

## 1.1 Aufbau und Funktion der menschlichen Haut

Die Haut ist mit ca. 16% Anteil am Körpergewicht das größte Organ des Menschen und steht in direktem Kontakt mit der Umwelt (Wickett und Visscher, 2006). Dadurch ist es, wie kaum ein anderes Organ, äußeren Einflüssen unmittelbar ausgesetzt. Die menschliche Haut besteht von außen nach innen im Wesentlichen aus drei Schichten: Epidermis und Dermis und Subkutis. Die Dermis ist maßgeblich für die Verankerung und die Ernährung der gefäßlosen Epidermis verantwortlich. Unterhalb der Dermis liegt die Subkutis und dient als Polster-, Isolier- und Verschiebeschicht. Die Epidermis ist als obere Hautschicht direkt den Umwelteinflüssen ausgesetzt ist. Die Epidermis wird in weitere fünf Schichten unterteilt. Von außen nach innen sind das:

- Stratum corneum
- Stratum lucidum
- Stratum granulosum
- Stratum spinosum
- Stratum basale

Die äußere Schicht der Epidermis, das Stratum corneum (SC), schützt als hochspezialisiertes und dynamisches Gewebe den Körper vor dem Eindringen von Mikroorganismen und anderen Fremdstoffen. Wesentliche Bedeutung hat das SC außerdem bei der Regulation der transepidermalen Wasserabgabe und des Feuchtigkeitsgehalts der oberen Hautschicht (Bouwstra und Ponc, 2006; Wickett und Visscher, 2006).

Der vorherrschende Zelltyp der Epidermis sind die Keratinozyten, die in allen fünf Schichten der Epidermis vorkommen. Ihre Zellteilung findet im Stratum basale statt. Von dort werden sie von nachkommenden Zellen an die Oberfläche emporgeschoben und verändern in einem streng regulierten Differenzierungsprozess kontinuierlich ihre Form und molekulare Zusammensetzung. Im Stratum granulosum vollzieht sich die terminale Differenzierung der Keratinozyten. Hierbei werden die Zellorganellen, inklusive Zellkern, abgebaut. Die avitalen verhornten Keratinozyten werden als Korneozyten bezeichnet. Die Hornschicht besteht an den meisten Körperstellen aus einer Schicht von 12-16 Korneozyten. Die Zellen verbleiben ungefähr zwei Wochen an der Hautoberfläche, bevor sie den Zellverbund als Hautschuppen verlassen (Harding, 2004; Wickett und Visscher, 2006).

Durch den komplexen Aufbau erfüllt das SC in Hinblick auf die Hautfeuchtigkeit sowohl eine Barriere- als auch eine Reservoirfunktion. Diese werden durch verschiedene Differenzierungsprozesse der Keratinozyten realisiert.

Während der Zelldifferenzierung werden die Lipide und Enzyme, welche in Zellorganellen, den sogenannten Odland-Körpern, gespeichert sind, in den Interzellularraum ausgeschleust. Durch enzymatische Veränderungen entsteht eine hydrophobe lamellär angeordnete Lipidmatrix, die eine Barriere für den transepidermalen Wasserverlust darstellt (Pons-Guiraud, 2007; Wickett und Visscher, 2006). Bestimmte Lipide, wie freie Fettsäuren, Glycosylceramid und Sphingosin besitzen zudem antibakterielle und antivirale Eigenschaften und schützen die Haut vor mikrobieller Besiedelung (Elias, 2005). Die häufigsten Lipide der Lipidmatrix sind Ceramide (ca. 50%), Fettsäuren (10-20%) und Cholesterol (20%). Der Gesamtanteil der Lipide am Volumen des SC beträgt ungefähr 20% (Harding, 2004).

Neben der Lipidmatrix trägt auch eine spezielle Hülle um den Korneozyten zur Regulation des Feuchtigkeitsgehalts des SC bei. Diese Hülle, das „*cornified envelope*“ (CE), ist ungefähr 10-20 nm stark. Es besteht aus einer inneren Protein- und einer äußeren Lipidschicht und schützt den jeweiligen Korneozyten vor Wasserverlust. Spezielle Zell-Zell-Verbindungen, wie die Corneodesmosomen, verbinden die CE untereinander und halten die Korneozyten zusammen (Harding et al., 2003; Wickett und Visscher, 2006).

Das Innere der Korneozyten enthält, neben Mikrofibrillen zur Stabilisierung der Zelle auch „*natural moisturizing factors*“ (NMF). Diese leiten sich unter anderem von dem Protein Fillagrin ab, welches eine wesentliche Rolle bei der Bildung der Mikrofibrillen spielt. Weitere NMF sind Laktat, Pyrolidoncarbonsäure (PCA) und Harnstoff. Durch ihr hohes hygroskopisches und wasserbindendes Potential tragen sie maßgeblich zur Aufrechterhaltung der Hornschichthydratation bei und sichern so die Reservoirfunktion des SC. Ihr Anteil beträgt 20-30% am Trockengewicht der Korneozyten (Harding, 2004; Wickett und Visscher, 2006).

Einen wesentlichen Einfluss auf die Funktion der Hautbarriere haben der lokale pH-Wert (4,0-5,5) und der Wassergehalt (ca. 30%) des SC (Wickett und Visscher, 2006). Trotz der Avitalität der Korneozyten reagiert das SC als Biosensor auf äußere und innere Einflüsse. Die Ausreifung einer funktionalen Hautbarriere kann durch diese Einflüsse gefördert oder behindert werden (Harding, 2004).

Weitere wichtige Zelltypen der Epidermis sind die Melanozyten und die Langerhanszellen. Die Melanozyten befinden sich im Stratum basale der Epidermis; das von ihnen produzierte Melanin schützt die Keratinozyten vor UV-Strahlung. Die Langerhanszellen tragen als dendritische Abwehrzellen zum immunologischen Schutz der Epidermis bei (Pons-Guiraud, 2007; Wickett und Visscher, 2006).

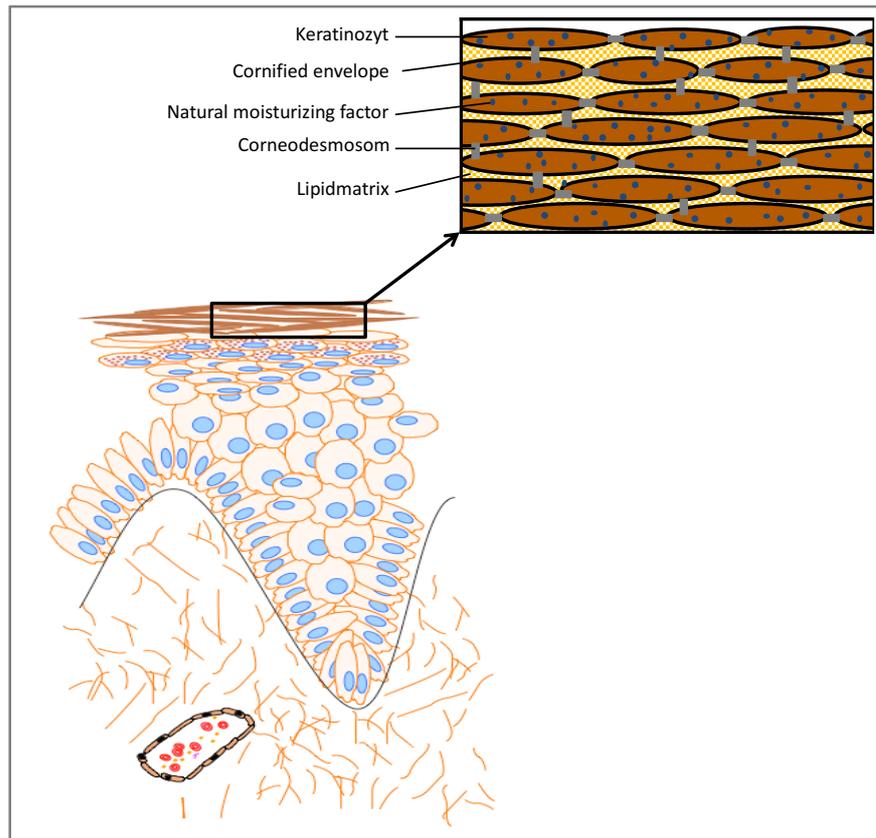


Abb. 1: Darstellung der Subkutis, der Dermis und der Epidermis (Eigene Darstellung)

## 1.2 Die geschädigte Hautbarriere als Ursache und Folge trockener Haut

Trockene Haut ist ein häufiges Symptom verschiedener Hauterkrankungen, aber auch Menschen ohne bekannte Erkrankungen können hiervon betroffen sein. Insbesondere vor dem Hintergrund der demografischen Entwicklung in Deutschland gewinnt dieses Symptom an Bedeutung, da ältere Menschen häufiger als jüngere Menschen unter trockener Haut leiden (Hurlow und Bliss, 2011). So sind etwas mehr als 50% der Pflegeheimbewohner von dem Symptom „trockene Haut“ betroffen (Lichterfeld et al., 2015). Doch auch jeder Dritte Jugendliche ist laut einer Studie von trockener Haut betroffen (Halvorsen et al., 2008).

Die Haut ist täglich endogenen und exogenen Einflüssen ausgesetzt, welche die Funktion der Hautbarriere stören können (Tab. 1). Die Folge der Störung der Hautbarriere sind lokale Entzündungsprozesse, die mit der Entstehung radikaler Sauerstoffspezies (ROS) einhergehen (Bickers und Athar, 2006). Dazu gehören Superoxid-Anion, Hydroxyl-Radikal, Wasserstoffperoxid und Singulett-Sauerstoff (Callaghan und Wilhelm, 2008). Die Haut verfügt über Mechanismen, die den schädigenden Einfluss von freien Radikalen minimieren. Diese Aufgabe übernehmen Enzyme und nicht enzymatische Antioxidanten, wie unter anderem Ascorbinsäure und Vitamin E. Entsteht ein Überschuss der freien Radikale und die körpereigenen Schutzmechanismen reichen nicht mehr aus, entsteht oxidativer Stress (Pinnell, 2003). Die Folge

des oxidativen Stresses der Haut ist die Denaturierung von Proteinen, die Veränderung von Apoptoseprozessen und die Ausschüttung proinflammatorischer Zytokine. Die Beeinträchtigung der Hautbarriere kann als *Circulus vitiosus* verstanden werden (Rawlings und Matts, 2005). Der Kontakt der Haut mit oberflächenaktiven Stoffen, wie Natriumlaurylsulfat (SLS) kann eine Schädigung der Hautbarriere initiieren. SLS ist ein weitverbreiteter Inhaltsstoff in Haut- und Haarwaschmitteln (Wickett und Visscher, 2006). SLS kann das SC durchdringen und der Kontakt mit Keratinozyten induziert die Zytokinausschüttung, insbesondere von Interleukin-1, Interleukin-6 und TNF (Proksch und Lachapelle, 2005). Die Folge ist eine reaktive Stimulation der Zellteilung mit dem Ziel der Reparatur der geschädigten Hautbarriere (Rawlings und Matts, 2005). Dies kann zu einer Störung des Differenzierungsprozesses der Keratinozyten führen. Folge dieser Störung kann eine qualitative Veränderung des Barrierelipids im Sinne einer veränderten Lipidzusammensetzung sein. Außerdem ist eine quantitative Veränderung des Barrierelipids im Sinne eines reduzierten Anteils der Lipide am Gesamtgewicht des SC eine mögliche Folge. Die Überstimulation der Keratinozyten kann eine unvollständige Ausreifung des CE bewirken und die Produktion der NMF reduzieren. Aufgrund des unzureichend ausgereiften CE können die Zellen die NMF nicht mehr ausreichend speichern. Auch die für die Barriere reifung und Abschuppung der Korneozyten relevanten Enzyme sind aufgrund des verringerten Wassergehaltes weniger aktiv (Rawlings und Matts, 2005). Die Konsequenz des veränderten Differenzierungsprozesses ist die Erhöhung des transepidermalen Wasserverlustes, die Abnahme des Feuchtigkeitsgehalts der Hornschicht und die Veränderung des pH-Wertes im SC. Die Barrierefunktion ist dann nicht nur von innen nach außen gestört, auch Fremdstoffe können nun aufgrund der gestörten Barrierefunktion leichter in das SC eindringen (Wickett und Visscher, 2006).

Die Aktivität der Enzyme, die an der Ausreifung der funktionsfähigen, gesunden Hautbarriere und an der geordneten Abschuppung der Korneozyten beteiligt sind, ist wiederum abhängig sowohl vom pH-Wert als auch vom Wassergehalt des SC (Rawlings und Matts, 2005; Rawlings, 2003). Durch die Hyperproliferation der Keratinozyten und die gestörte Abschuppung nimmt das Gefälle des Wassergehalts des SC zu. Ein erhöhter transepidermaler Wasserverlust ist daher die Folge und dieser *Circulus vitiosus* setzt sich fort. Ohne adäquate Intervention führt dieser Funktionsverlust zur weiteren Funktionseinschränkung der Hautbarriere (Rawlings und Matts, 2005).

Tab. 1: Endogene und Exogene Einflüsse mit potenziell schädigendem Einfluss auf die Hautbarriere (nach Barco und Giménez-Arnau, 2008; Harding, 2004; Lodén, 2005)

Endogene Einflussfaktoren	Exogene Einflussfaktoren
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Alter</li> <li>• Genetische Disposition (z.B. Ichthyose, atopische Dermatitis)</li> <li>• Internistische Erkrankungen (z.B. Diabetes mellitus, Niereninsuffizienz)</li> <li>• Hormon- und Immunstatus</li> <li>• Hauterkrankungen (z.B. Atopische Dermatitis, Psoriasis)</li> <li>• Stress</li> <li>• Ernährung</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Anwendung von Tensiden und Lösungsmitteln</li> <li>• Häufige Anwendung von entfettenden Dusch- und Badezusätzen; häufiger Kontakt mit Wasser</li> <li>• Temperaturwechsel</li> <li>• Pathogene Mikroorganismen</li> <li>• Mechanische Schäden</li> <li>• Geringe Umgebungstemperatur</li> <li>• UV-Strahlung</li> <li>• Saisonale Einflüsse</li> </ul>

### 1.3 Symptome trockener Haut

Von trockener Haut betroffene Personen nehmen den veränderten Feuchtigkeitsgehalt des SC üblicherweise als raue, schuppige und gespannte Hautoberfläche wahr. Durch den verminderten Wassergehalt können Vergröberungen des Hautreliefs sichtbar werden und Fissuren der Hautoberfläche auftreten. Eine lokale Rötung der Haut aufgrund des lokalen Entzündungsprozesses möglich. Außerdem kann starker und belastender Juckreiz auftreten (Barco und Giménez-Arnau, 2008; Pons-Guiraud, 2007). Das Kratzen der betroffenen Hautareale ist eine häufige unwillkürliche Reaktion zur Linderung des Juckreizes. Allerdings kann dies den Barrierschaden verstärken und den sogenannten Juckreiz-Kratz-Kreislauf auslösen. Dieser Kreislauf beginnt mit dem Juckreiz der Haut durch eine Schädigung der Hautbarriere. Durch das Kratzen der Haut wird die Hautbarriere weiter geschädigt und lokale Entzündungsprozesse ausgelöst, die Juckreiz provozieren (Harding, 2004). Die geschädigte Hautbarriere führt schließlich zu erhöhtem Verlust von Feuchtigkeit über die Hautoberfläche, lokalen Entzündungsreaktionen sowie Verringerung des Schutzes vor dem Eindringen von Allergenen oder Mikroorganismen. Die Schädigung der Barrierefunktion begünstigt die Entwicklung einer Kontaktdermatitis und die mikrobielle Besiedelung der Haut, meist mit *Staphylococcus aureus* (Proksch und Brasch, 2012).

Auch wenn die Störung der Barrierefunktion der Haut für die Betroffenen in der Regel keine lebensbedrohlichen Folgen hat, können die sensorischen Symptome und die Hauterscheinungen für die Betroffenen eine ernstzunehmende Beeinträchtigung der Lebensqualität bedeuten (Barankin und DeKoven, 2002; Baroni et al., 2012). Dabei spiegelt der objektiv eingeschätzte Krankheitswert der Hautveränderung nicht immer die von den Betroffenen empfundenen Beeinträchtigungen wider. So kann eine Hautveränderung mit geringem Krankheitswert die

Betroffenen sehr stark belasten und die Lebensqualität stärker einschränken, als nach objektiver Einschätzung zu erwarten ist (Jemec, 1996).

### 1.3.1 Topische Behandlung der Haut

Das Ziel der topischen Behandlung der trockenen Haut ist die Wiederherstellung eines geeigneten Milieus für die ungestörte Differenzierung und Abschuppung der Korneozyten. Zudem soll der Verschlechterung des Hautzustandes entgegengewirkt werden (Pons-Guiraud, 2007).

Cremes und Salben sind Standardvehikel für die topische Applikation. Dabei sind Cremes halb feste Formulierungen, die eine lipophile und eine hydrophile Phase aufweisen. Aus pharmazeutischer Sicht ist die Salbe ein einphasiges Vehikel, das sich von der Creme durch das Fehlen einer Wasserphase unterscheidet. In der dermatologischen Praxis wird der Begriff Salbe jedoch eher für die lipophile Creme verwendet (Wohlrab, 2014). In hydrophilen Cremes bildet das Wasser die kontinuierliche Phase, in der die lipophilen Bestandteile emulgiert sind. Hydrophile Cremes sind Zubereitungen vom Typ O/W (Öl in Wasser). Lipophile Cremes stellen W/O (Wasser in Öl) -Grundlagen dar, in denen das Wasser in der lipophilen Phase als Tröpfchen vorliegt (Daniels und Knie, 2007).

In der topischen Therapie wird zwischen der Grundlage (Vehikel) und dem Wirkstoff unterschieden. Auch ohne Zusatz von speziellen Wirkstoffen kann das Vehikel selbst bereits die Barriereeigenschaft der Haut beeinflussen (Daniels und Knie, 2007). Dabei nimmt das Vehikel, je nach Zusammensetzung, zum Beispiel Einfluss auf den Feuchtigkeitsgehalt des SC. Das geschieht einerseits über die direkte Feuchtigkeitsabgabe des im Vehikel enthaltenen Wassers an die obere Hautschicht. O/W-Zubereitungen tragen insbesondere nach kurzzeitiger Anwendung zur verbesserten Hydratation der Hornschicht bei. W/O-Zubereitungen erzielen diesen Effekt erst nach langfristiger Applikation. Andererseits können hygroskopisch wirksame Substanzen das Wasser sowohl aus dem Vehikel selbst oder aus der Umgebung aufnehmen und damit zur Hydratation der Hornschicht beitragen. Außerdem ist die Beeinflussung der Feuchtigkeit des SC durch den Okklusionseffekt möglich. Hierbei bildet das Vehikel einen Film auf dem SC und verhindert somit die Evaporation des Wassers (Fluhr und Rigano, 2004).

Ein potenzieller Wirkstoff muss vom Vehikel aufgenommen und anschließend in die gewünschte Hautschicht transportiert und dort liberiert werden. Letztendlich bestimmen die Eigenschaften des Vehikels und die Wechselwirkungen mit dem Wirkstoff in welcher Hautschicht der Wirkstoff abgegeben wird (Wohlrab, 2014).

Die Auswahl des Vehikels für den Wirkstofftransport muss an den jeweiligen Hautzustand und an den verwendeten Wirkstoff angepasst werden. Es besteht ein Zusammenhang zwischen dem Wasserfluss von innen nach außen und dem Wirkstofffluss von außen nach innen. Daher ist

infolge von Barrierefunktionsstörungen die Penetrationsfähigkeit von applizierten Cremes in die Haut verbessert. Insgesamt wird bei akut entzündlichen Hautzuständen ein hydrophiles und bei chronisch entzündlichen Hautzuständen ein lipophiles Vehikel für die Behandlung bevorzugt (Gloor und Gehring, 2003; Wohlrab, 2014).

Sehr trockene Haut oder der Kontakt mit irritativ-toxischen Substanzen kann zur Ausbildung eines lokalen Ekzems führen. Die Behandlung kann mit glukokortikoidhaltigen Cremes erfolgen, doch bereits die kurzzeitige Anwendung kann die Hautbarriere schwächen (Kao et al., 2003). Die Barriererestitution der trockenen Haut mittels pflanzlicher, nebenwirkungsarmer Wirkstoffe stellt daher eine erstrebenswerte Alternative dar.

#### **1.4 Die Verwendung von Pflanzenextrakten in der Hautpflege**

Unerwünschte Hauterscheinungen, wie Irritation, Trockenheit und Faltenbildung, können durch bestimmte Pflanzeninhaltsstoffe in Hautpflegeprodukten verringert werden. Darüber hinaus können diese die Wundheilung fördern, die Haut vor UV-induzierten DNA-Schäden schützen, die antimikrobielle Besiedlung reduzieren sowie den Juckreiz der Haut verringern (Draelos, 2012; Thornfeldt, 2005).

In einer Metaanalyse wurde für alle untersuchten pflanzlichen Extrakte ein fördernder Einfluss auf die Hornschichthydratation sowie eine Reduktion des Wasserverlust über die Hautoberfläche festgestellt (Casetti et al. 2011). Der positive Einfluss von Pflanzeninhaltsstoffen auf die Haut ist häufig auf das antioxidative und antiinflammatorische Potential der verwendeten Pflanzenbestandteile zurückzuführen (Stallings und Lupo, 2009). Für Erkrankungen wie die Atopische Dermatitis, Psoriasis, Akne, Kondylome und Herpes simplex existieren klinische Studien, die die Wirksamkeit verschiedener Pflanzeninhaltsstoffe nach lokaler oder oraler Applikation nachweisen (Reuter et al., 2010). In den ausgewerteten Studien verbesserte sich der Hautzustand der Probanden häufig signifikant im Vergleich zur Behandlung mit dem Vehikel bzw. mit dem Placebo. Teilweise war die Verwendung der Pflanzenextrakte der Therapie mit dem etablierten Arzneimittel überlegen.

Unerwünschte Wirkungen können auch nach der lokalen Applikation von pflanzlichen Wirkstoffen auftreten. Typisch ist die Entwicklung einer allergischen oder irritativen Kontaktdermatitis nach lokaler Anwendung. Bestimmte Pflanzen besitzen ein hohes allergenes Potential. Dazu gehören zum Beispiel Australischer Teebaum (*Melaleuca alternifolia*), Echte Kamille (*Matricaria chamomilla* L.) und Campher (Stallings und Lupo, 2009; Thornfeldt, 2005). Die Auswahl pflanzlicher Inhaltsstoffe für die topische Applikation sollte daher stets gewissenhaft und unter Berücksichtigung der aktuellen Studienlage durchgeführt werden.

## 1.5 Die traditionelle Verwendung des Salbeis

Salbei gehört zur Familie der Lippenblütler (Lamiaceae) und ist mit 900 bekannten Arten eine der artenreichsten Gattungen. Seinen Ursprung hat der echte Salbei im Mittelmeerraum und wird in vielen weiteren Ländern, insbesondere in Süd-Ost-Asien sowie Zentral- und Südamerika, kultiviert. In Europa sind u.a. folgende Arten heimisch: *Salvia officinalis* L. (Echter Salbei), *Salvia fruticosa* Mill (Griechischer Salbei), *Salvia lavendulifolia* Vahl (Spanischer Salbei) (Abu-Darwish et al., 2013; Ululeben, 2000).

In der traditionellen Volksmedizin hat der echte Salbei eine feste Rolle in der Behandlung verschiedener Krankheitsbilder. Er wird seit dem Altertum (bis ca. 500 n.Chr.) als Heilpflanze verwendet. Bereits Theophrastus v. Eresos (371-287 v. Chr.) und Plinius dem Älteren (24-79 n. Chr.) war *Salvia officinalis* L. als Heilpflanze geläufig. Auch in Schriften der Schule von Salerno wird Salbei als Heilmittel erwähnt (Dweck, 2000). In Deutschland wird der echte Salbei vermutlich seit 800 n. Chr. in Bauern- und Klostergärten als Heilpflanze kultiviert (Auster und Schäfer, 1952, S. 5). Der Name *Salvia officinalis* leitet sich von den Begriffen „salvare“ (lat.): „heilen, retten“ und „officinalis“, welcher auf die medizinische Verwendung der Pflanze hindeutet, ab (Abu-Darwish et al., 2013)

### 1.5.1 Orale Anwendungen

Die Herstellung eines Tees (Infus) ist die übliche Zubereitung der Salbeiblätter für die innerliche Anwendung. Das Infus dient der Behandlung von entzündetem Zahnfleisch sowie von Angina tonsillaris, Pharyngitis, Laryngitis oder Stomatitis. Auf den Speichelfluss wirken die Inhaltsstoffe des Salbeis hemmend (Auster and Schäfer, 1952; Dweck, 2000). Die Behandlung von Fieber, Unruhezuständen und Libidoverlust gehören ebenso zur traditionellen Verwendung des Infus, wie die Behandlung von entzündlichen Erkrankungen des Verdauungstraktes, von Gallen- und Leberleiden, kolikartigen Bauchschmerzen und Blähungen (Dweck, 2000). Die antihydrotische Wirkung des Infuses aus frischen oder getrockneten Blättern wurde erstmals Anfang des 18. Jahrhunderts beschrieben. Die schweißhemmende Wirkung des erkalteten Aufgusses von Salbeiblättern wurde traditionell zur Behandlung von an Tuberkulose Erkrankten oder sich in der Rekonvaleszenz befindlichen Patienten genutzt. In der Volksmedizin wird *Salvia*

officinalis L. außerdem als harntreibendes und menstruationsförderndes Mittel eingesetzt (Auster und Schäfer, 1952).

### 1.5.2 Anwendungen mit Wirkungen auf die Haut

Auch für die Hautpflege ist die Anwendung von Salbeizubereitungen in der Volksmedizin etabliert. Hier wird der Salbeiaufguss durch Auftragen auf die Haut gegen Dermatosen und Warzen sowie zur Verfeinerung des Hautbildes bei großen Hautporen angewendet. Ebenso werden Salbeizubereitungen zur Heilung frischer, ulzerierender oder eiternder Wunden lokal appliziert (Auster und Schäfer, 1952; Dweck, 2000). Darüber hinaus enthält der echte Salbei Stoffe, die den Juckreiz und den Schmerz von Insektenstichen reduzieren. Das Einreiben der Kopfhaut mit einer Lösung aus den getrockneten Blättern des Salbeis soll gegen Haarausfall wirken und zur Stärkung der Haare und ihrem Wachstum beitragen (Dweck, 2000). Zur Behandlung von hämorrhoidalem Juckreiz werden Salbeizubereitungen lokal aufgetragen (Auster und Schäfer, 1952).

## 1.6 Biologisch relevante Inhaltsstoffe des Salbeis

*Salvia officinalis* L. hat eine Vielzahl von verschiedenen Inhaltsstoffen. Zu den biologisch relevanten Hauptbestandteilen des Salbeis zählen ätherische Öle (Salbeiöl) und verschiedene aromatischen Verbindungen (Farhat et al., 2009; Giannouli und Kintzios, 2000). Die Konzentration der Inhaltsstoffe ist abhängig von den Wachstumsbedingungen, dem Alter der Pflanze zum Erntezeitpunkt, den Licht- und Temperaturbedingungen während der Aufbewahrung und der Art der Verarbeitung. Die fertigen Salbeiprodukte unterscheiden sich daher häufig erheblich in der Qualität und Quantität der enthaltenen Inhaltsstoffe (Farhat et al., 2009; Russo et al., 2013).

### 1.6.1 Ätherische Öle

Von allen Salbeiarten haben die Blätter des *Salvia officinalis* L. die höchste Konzentration an ätherischen Ölen (1-2,5%) (Auster und Schäfer, 1952; Giannouli und Kintzios, 2000). Das Salbeiöl setzt sich aus einer komplexen Mischung verschiedener Terpene zusammen. Hauptbestandteile sind  $\alpha$ - und  $\beta$ -Thujon (35-50%), wobei  $\alpha$ -Thujon den höheren Anteil hat. Dabei gibt es mindestens zwei verschiedene Typen von *Salvia officinalis* L. Einen mit hohem  $\beta$ -Thujon-Gehalt (16-32%) und einen mit geringem  $\beta$ -Thujon-Gehalt (4-8%) (Giannouli und Kintzios, 2000). Neben Campher, 1,8-Cineol, Borneol und Linalool enthält das Salbeiöl eine Vielzahl weiterer Inhaltsstoffe (Giannouli und Kintzios, 2000).

### 1.6.2 Aromatische Verbindungen

Triterpene und Diterpene zählen zu den aromatischen Verbindungen des Salbeis. Triterpene sind die Hauptbestandteile der Blätter, während Diterpene vor allem in der Sprossachse vorkommen. Zu den biologisch relevanten Triterpenen des Salbeis gehören die Ursolsäure und die Oleanolsäure (Ulubelen, 2000). Eines der häufigsten Diterpene, das sowohl in den Blättern als auch in der Sprossachse vorkommt, ist Manool (Veličković und Randelović, 2003). Weitere relevante Diterpene sind Carnosol und Carnosolsäure (Miura et al., 2002). Diese sind in nahezu allen Salbeiarten enthalten. Weitere wichtige aromatische Verbindungen des Salbeis sind aromatische (phenolische) Säuren und Flavonoide. Relevante Vertreter sind u.a. die Rosmarinsäure, Kaffeesäure, Luteolin, Apigenin, Genkwanin und Hispidulin (Baricevic et al., 2001; Farhat et al., 2009). Insbesondere auf die Rosmarinsäure und ihre Derivate sowie Carnosolsäure und Carnosol sind die starken antioxidativen und antiinflammatorischen Eigenschaften des Salbeis zurückzuführen (Baricevic et al., 2001; Deans und Simpson, 2000; Miura et al., 2002)

## 1.7 Biologische Einflüsse der Inhaltsstoffe des Salbeis

Den Inhaltsstoffen des Salbeis werden verschiedene positive Eigenschaften für die Gesundheit des Menschen zugeschrieben. Nicht bei allen ist die Wirkweise vollständig verstanden und bestimmte Wirkungen lassen sich nur eingeschränkt den einzelnen Inhaltsstoffen zuordnen. Im Folgenden wird auf medizinisch relevante Einflüsse der Hauptinhaltsstoffe des Salbeis eingegangen. Dabei fassen die Abschnitte 1.7.1- 1.7.4 die extrakutanen Einflüsse zusammen und die Abschnitte 1.7.5-1.7.7 befassen sich mit den Einflüssen der Inhaltsstoffe von Salbei auf die Haut.

### 1.7.1 Krebshemmende und antimutagene Wirkung

Die Bestandteile des Salbeiöls  $\alpha$ - und  $\beta$ -Thujon, 1,8-Cineol und vermutlich auch Campher induzieren die Apoptose von mutierten Zellen (Russo et al., 2013) Eine *in vitro* Studie an Insulinomzellen zeigt, dass dies sowohl durch die vermehrte Synthese von NO (Stickoxid) in mutierten Zellen, als auch durch die Makrophagenaktivierung und die Sekretion von proinflammatorischen Mediatoren geschieht (Kontogianni et al., 2013). Salbeiextrakt hat *in vitro* eine dosisabhängige zytotoxische Wirkung auf Leukämie- und Lymphomzellen (Shahneh et al., 2013).

### 1.7.2 Senkender Einfluss auf den Blutglukosespiegel

Im Tierversuch wird der Nüchtern-Glukose-Spiegel von gesunden Versuchstieren gesenkt. Auf den Nüchtern-Glukose-Spiegel von erkrankten Versuchstieren hat der Salbeiextrakt hingegen keinen Einfluss. Daraus schlossen die Autoren, dass Salbeiextrakt einen präventiven Einfluss auf

die Entwicklung von Diabetes mellitus haben kann (Lima et al., 2006). In einer anderen Studie hingegen senkte nur der methanolisch extrahierte Salbei, nicht aber die ätherischen Öle, den Blutglukosespiegel von hyperglykämischen diabetischen Ratten. Auf gesunde Ratten hatten weder der methanolische Salbeixtrakt noch die ätherischen Öle des Salbeis eine blutzuckersenkende Wirkung (Eid et al., 2005).

### 1.7.3 Fördernder Einfluss auf die Gedächtnisleistung und die Stimmung

In einer placebokontrollierten Studie zeigen Patienten, die an milder bis moderater Alzheimer-Demenz erkrankt waren nach 14-tägiger Einnahme von Salbeixtrakt eine signifikante Verbesserung der Gedächtnisleistung im Vergleich zur Placebo-Gruppe (Akhondzadeh et al., 2003).

Eine placebokontrollierte, doppelblinde, cross-over Studie mit 30 jungen gesunden Probanden zeigt einen stimmungsaufhellenden Effekt nach der Einnahme von Salbeixtrakten im Vergleich zur Einnahme eines Placebopräparates auf (Kennedy et al., 2006).

### 1.7.4 Schützende Wirkung auf den Magen

Im Tierversuch zeigt hydroalkoholischer Salbeixtrakt eine protektive Wirkung auf die akut sowie auf die chronisch geschädigte Magenschleimhaut. In dieser Studie war Carnosol vermutlich der wirksame Inhaltsstoff. Außerdem wurde die Produktion der Magensäure durch den hydroalkoholischen Salbeixtrakt dosisabhängig verringert. *In vitro* wirkt der hydroalkoholische Salbeixtrakt hemmend auf die Aktivität der H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase (Protonen-Kalium-Pumpe). Die Wirkung des Salbeixtrakts war gleichwertig mit der Wirkung des Arzneimittels „Omeprazol“, welches als Protonenpumpeninhibitor eingesetzt wird (Mayer et al., 2009).

### 1.7.5 Agonist an Peroxisomen-Proliferator-aktivierten-Rezeptoren (PPAR)

Placebokontrollierte Studien zeigen, dass die Inhaltsstoffe des Salbeis den Gesamtcholesterol-, Triglycerid- und LDL-Cholesterin-Blutspiegel senken. Als wirksam erwiesen sich hierbei insbesondere die Diterpene Carnosolsäure und Carnosol. Vermutlich wirken die Stoffe hemmend auf die pankreatische Lipase und agonistisch auf den PPAR- $\gamma$ , der die Insulinsensitivität steigert (Kianbakht und Dabaghian, 2013). Christensen et al. (2010) untersuchten den Effekt von Salbeixtrakt auf PPAR- $\gamma$  und identifizierten Linolensäure und Carnosolsäure als Agonisten des Rezeptors (Christensen et al., 2010). Rau et al. (2006) identifizierten Carnosol und Carnosolsäure als Agonisten an PPAR- $\gamma$  (Rau et al., 2006).

PPAR sind in die Zellproliferation, die Zelldifferenzierung und die Restitution der Hautbarriere involviert. Somit können PPAR-Liganden zur Barriererestitution und zur Entzündungshemmung in der Haut beitragen. Dabei hat die Aktivierung von PPAR- $\gamma$  antiinflammatorische Effekte (Di-Poï et al., 2004; Elias, 2005). PPAR- $\alpha$  spielt eine Rolle in der

Keratinozytendifferenzierung und ist damit an der Ausbildung der Hautbarriere beteiligt. Der agonistische Effekt von Ursolsäure und Oleanolsäure an PPAR-  $\alpha$  konnte bereits im Tierversuch bestätigt werden. In diesem Versuch wurde die Restitution der Hautbarriere durch Ursolsäure und Oleanolsäure nach Schädigung der Hautbarriere durch Tape-stripping nachgewiesen (Lim et al., 2007).

#### 1.7.6 Antibakterielle Wirkung

Die Triterpene Oleanolsäure, Ursolsäure, Carnosolsäure und Carnosol wirken antibakteriell auf Vancomycin resistente Enterokokken (VRE). Ihre Wirkung ist, bei geringerer Toxizität für den Anwender, schwächer als die Wirkung klassischer Antibiotika. Oleanolsäure und Ursolsäure wirken bakterizid auf *Enterococcus faecium* und bakteriostatisch auf *Escherichia faecalis*. Carnosolsäure und Carnosol verstärken die antibakterielle Wirkung von Aminoglykosidantibiotika (Horiuchi et al., 2007a; Horiuchi et al., 2007b). Das Vorkommen von *Staphylokokkus aureus* auf Oberflächen wird durch Salbeiextrakt nachweislich reduziert (Bouaziz et al., 2009). Dies ist ein relevanter Aspekt für die topische Applikation von Salbeiextrakten, da die Ekzeme von Patienten mit atopischer Dermatitis häufig mit *S. aureus* besiedelt sind und dadurch die Ausbildung einer gesunden Hautbarriere verhindert wird (Dong et al., 1974).

#### 1.7.7 Antioxidative und antiinflammatorische Wirkung

Das antioxidative Potential relevanter Inhaltsstoffe des Salbeis, wie Rosmarinsäure, Caronosol, Carnosolsäure und Luteolin, ist hoch. Studien zeigen, dass die antioxidative Wirkung dieser Inhaltsstoffe vergleichbar ist mit der Wirkung von L-Ascorbinsäure und  $\alpha$ -Tocopherol (Miura et al., 2002). Rosmarinsäure besitzt neben antioxidativen auch antiinflammatorische Eigenschaften und lindert im Tierversuch Hautveränderungen, die denen der atopischen Dermatitis gleichen (Jang et al., 2011).

Neben der Rosmarinsäure ist das Flavonoid Luteolin ein weiterer wichtiger Wirkstoff des Salbeis. Auf mit UV-B bestrahlte menschliche Keratinozyten wirkt Luteolin antioxidativ und antiinflammatorisch (Wölfle et al., 2011). In verschiedenen Tierversuchen wurden die antioxidative und antiinflammatorische Aktivität von Luteolin und seiner glykolisierten Form, wie zum Beispiel Luteolin-7-glucosid, nachgewiesen (Baolin et al., 2005; Jung et al., 2012; Park und Song, 2013). Dabei ist der Effekt von Luteolin in verschiedenen Studien stärker als der Effekt der glykolisierten Form. Gleichzeitig ist aber auch das zytotoxische Potential des Aglykons Luteolin höher als das der glykolysierten Form (Jung et al., 2012; Park und Song, 2013). Baolin et al. (2005) stellten im Tierversuch fest, dass Luteolin nach topischer Applikation das Kratzverhalten und die Bildung eines chemisch induziertes Ohrödems verringert. Die hemmende Wirkung auf die Ödembildung war auf den antiinflammatorischen Einfluss des Luteolins

zurückzuführen. Das Kratzverhalten wird durch die mastzellstabilisierende Wirkung des Luteolins reduziert (Baolin et al., 2005).

Die phenolischen Komponenten des Salbeis sind bezüglich der Erythemreduktion der Haut nach UV-B Bestrahlung ebenso wirksam wie eine 1%-ige Hydrocortisonsalbe und verringern das Erythem stärker als das Vehikel ohne Wirkstoff (Reuter et al., 2007).

Im Tierversuch ist die antiinflammatorische Wirkung von Salbeiblattextrakt nach topischer Applikation stärker als ein Vergleichsmedikament aus der Gruppe der NSAR. Die Ursolsäure übte in dieser Studie stärkere Wirkung aus als die ätherischen Öle und die Oleanolsäure (Baricevic et al., 2001).

Ob die Ergebnisse der Tierversuche direkt auf den Menschen übertragbar sind, ist nicht gesichert. Die Studienergebnisse verdeutlichen jedoch das antioxidative und das antiinflammatorische Potential der relevanten Inhaltsstoffe des Salbeis. Die antiinflammatorische Wirkung wiederum ist in der Anwendung auf der menschlichen Haut sehr bedeutsam, da dort nach Schädigung der Hautbarriere lokale Entzündungsprozesse stattfinden. Diese Entzündungsprozesse gehen mit der Ausschüttung von Zytokinen und mit der Bildung reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) einher. ROS können durch oxidativen Stress Hautveränderungen triggern und aufrecht erhalten (Bickers und Athar, 2006). Flavonoide und andere phenolische Inhaltsstoffe antagonisieren die Zytokine und dienen als Radikalfänger, hemmen die ROS-Produktion und aktivieren antioxidative Enzyme (Seelinger, 2008). Dadurch kann der lokale Entzündungsprozess reduziert und dadurch die Ausbildung einer funktionsfähigen Hautbarriere gefördert werden. Wahrscheinlich bewirkt nicht ein einzelner Inhaltsstoff des Salbeis allein einen bestimmten biologischen Einfluss. Am ehesten wird dieser durch das Zusammenwirken der verschiedenen Inhaltsstoffe erreicht.

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass Wirkstoffe des Salbeis, wie beispielsweise Rosmarinsäure und Luteolin, in Abhängigkeit von ihrer qualitativen und quantitativen Zusammensetzung nach lokaler Applikation einen antioxidativen und antiinflammatorischen Effekt auf die menschliche Haut haben können.

## **1.8 Toxizität der Inhaltsstoffe**

Über toxische Effekte nach der Einnahme oder der Applikation von salbeihaltigen Mitteln beim Menschen wurde in Case-Reports berichtet. Klinische Studien sind bei bekanntem toxischen und prokonvulsivem Potential der ätherischen Öle des Salbeis ethisch nicht vertretbar. Die Einnahme von Salbeiöl kann unerwünschte Effekte wie Schwindel oder Magenbeschwerden haben. In schweren Fällen können generalisierte Krampfanfälle auftreten. Diese schweren Zwischenfälle ließen sich meist auf die versehentliche Überdosierung des Salbeiöls zurückführen (Burkhard et al., 1999; Halicioglu et al., 2011; Millet et al., 1981). Insbesondere Thujon und Campher können

beim Menschen Krampfanfälle auslösen (Burkhard et al., 1999; Millet et al., 1981). Dabei besitzt  $\alpha$ -Thujon eine stärkere Toxizität als  $\beta$ -Thujon (Abu-Darwish et al., 2013). Kinder sind möglicherweise besonders gefährdet, da das Nervensystem noch nicht vollständig entwickelt ist (Woolf, 2003). Von der Einnahme von salbeihaltigen Zubereitungen während der Schwangerschaft wird abgeraten, da das Thujon stimulierend auf die Uterusmuskulatur wirkt und damit zum Abort führen kann (Dweck, 2000).

Die Toxizität von Salbeiextrakten wurde *in vitro* untersucht und dosisabhängige toxische Effekte auf Hepatozyten wurden festgestellt (Lima et al., 2004). Die Empfindlichkeit von Keratinozyten gegenüber ätherischen Ölen ist noch nicht vollständig geklärt. Screenings zeigen jedoch, dass Keratinozyten empfindlich auf diverse ätherische Öle reagieren. In Studien wurden jedoch keine zytotoxischen Effekte von Salbeiöl auf Keratinozyten festgestellt. Allerdings enthielten die verwendeten Salbeiextrakte einen relativ geringen Anteil an Thujon. Salbeiextrakte können also abhängig von ihrer Zusammensetzung zur topischen Applikation geeignet sein (Abu-Darwish et al., 2013). Hinsichtlich der aktuellen Studienlage sollten Salbeiextrakte mit einem geringen Thujongehalt bevorzugt werden.

Über unerwünschte Effekte nach topischer Applikation von *Salvia officinalis* L. bzw. nach Hautkontakt mit dieser Pflanze wurde in Einzelfällen berichtet. Ein Fallbericht beschreibt die Entwicklung eines allergischen Kontaktekzems durch die Applikation eines salbeieextrakt haltigen Lippenbalsams. Die betroffene Patientin zeigte im durchgeführten Patch-Test eine positive allergische Hautreaktion auf den Salbeiextrakt (Mayer et al., 2011). Ein weiterer Fallbericht dokumentiert die Entwicklung eines allergischen Kontaktekzems eines Pilzsammlers. Der Patch-Test auf *Salvia officinalis* L. ergab ein positives Ergebnis, wobei Alantolacton als das auslösende Allergen identifiziert wurde (Sertoli et al., 1978). Darüber hinaus existieren einzelne Berichte darüber, dass Pflanzen aus der Familie der Lippenblütler eine allergische Kontaktdermatitis auslösen können (Hjorther et al., 1997; Martínez-González et al., 2007). Insgesamt ist aber davon auszugehen, dass es sich bei der Entwicklung eines Kontaktekzems nach Kontakt mit Salbei um Einzelfälle handelt. Das Auftreten klinisch relevanter irritativer Effekte durch die Applikation des salbeihaltigen Pflegepräparats war in der vorliegenden Studie also nicht sehr wahrscheinlich. Um das Auftreten unerwünschter Reaktionen durch die Prüfpräparate zu erkennen und frühzeitig entsprechende Maßnahmen ergreifen zu können, wurde die Haut der Studienteilnehmer im Studienverlauf bei jedem Kontakt auf unerwünschte Effekte beobachtet. Durch die topische Applikation der Prüfpräparate mit 5-8% Salbeiextrakt im Trockenanteil war keine relevante systemische Bioverfügbarkeit zu erwarten.

## 2 Zielstellung

Hauttrockenheit als Zeichen einer gestörten Hautbarriere ist für viele Betroffene ein kosmetisches und medizinisch relevantes Problem. Die Beeinträchtigung der Hautbarriere des SC führt aufgrund der abgeschwächten Reservoir- und Barrierefunktion zur gesteigerten Wasserabgabe über die Haut. Die Folge sind gestörte Abläufe im Differenzierungsprozess der Keratinozyten, welche mit einer lokalen Entzündungsreaktion einhergehen können. Die im Rahmen der Entzündungsreaktion gebildeten ROS und proinflammatorischen Zytokine können diesen Prozess aufrechterhalten und die physiologischen Reparaturmechanismen verzögern. Die Unterbrechung dieses Kreislaufes kann dazu beitragen, dass die physiologische Barrierefunktion wiederhergestellt wird, der Wasserverlust und die Hautrötung reduziert werden und die Speicherfähigkeit des SC für Wasser zunimmt.

Salbei wird traditionell bei Hautfunktionsstörungen angewendet und die antioxidativen und antiinflammatorischen Effekte sind gut erforscht. Ein geeignetes Vehikel und eine ausreichende Bioverfügbarkeit der wirksamen Salbeixtrakte im SC kann aufgrund der bekannten biologischen Wirksamkeit der ausgewählten Wirkstoffe zur Restitution der geschädigten Hautbarriere beitragen.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit ist, die Wirksamkeit des wässrig-extrahierten Salbeixtrakts auf die Barriererestitution und die Irritation der Haut im zeitlichen Verlauf bei zweimal täglicher Anwendung zu untersuchen. Die Hauptwirksubstanzen des Extrakts sind Luteolin-7-glucosid und Rosmarinsäure. Um die möglichen Einflüsse des Salbeixtrakts konzentrationsabhängig differenzieren zu können, werden Testpräparate mit unterschiedlicher Salbeixtraktkonzentration verglichen. Als Referenz werden jeweils ein hydrophiles und ein lipophiles Vehikel verwendet.

Die zentralen Fragestellungen sind:

1. Kann nach der topischen Applikation von Salbeixtrakt ein konzentrationsabhängiger Einfluss auf die Barrierefunktion der Haut klinisch nachgewiesen werden?
2. Ist nach der topischen Applikation von Salbeixtrakt ein konzentrationsabhängiger Einfluss auf die Irritation der Haut klinisch nachweisbar?

Zur Beantwortung dieser Forschungsfragen wurden der transepidermale Wasserverlust, der Wassergehalt der Hornschicht, sowie die Hautrötung der artifiziell geschädigten Haut im zeitlichen Verlauf gemessen und ausgewertet. Es handelt sich bei dieser Arbeit um eine kosmetische Studie.

## **3 Material und Methoden**

### **3.1 Studiendesign**

Bei der vorliegenden Arbeit handelt es sich um eine prospektive Proof-of-concept Kosmetikstudie. Die Wirksamkeit der Testpräparationen wurde vehikelkontrolliert ermittelt und intraindividuell verglichen. Die Studie wurde monozentrisch, randomisiert und doppelverblindet durchgeführt. Die Studienleitung und die Study Nurse waren unverblindet. Die Studie erhielt ein positives Votum der Ethik-Kommission der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg am 23.04.2014 (Studien-Nummer: K77/13-ZKSD).

### **3.2 Zielparameter**

Der primäre Zielparameter dieser Studie war der transepidermale Wasserverlust (TEWL) der Hornschicht. Der TEWL wurde vor der Erstapplikation der Prüfpräparate und anschließend alle 12 Stunden über 6 Tage ermittelt. Sekundäre Zielparameter waren der Wassergehalt des SC und die Rötung der Hautoberfläche. Die sekundären Zielparameter wurden vor der Erstapplikation der Prüfpräparate und anschließend alle 12 Stunden über 6 Tage ermittelt.

### **3.3 Prüfpopulation**

#### **3.3.1 Probandenrekrutierung**

Die Probanden wurden über die Datenbank des ZKSD (Zentrum klinische Studien Dermatologie) rekrutiert. Auf eine Fallzahlschätzung wurde verzichtet, da es sich in der vorliegenden Arbeit um eine Kosmetikstudie handelt und für die untersuchten Prüfpräparate bisher keine validierten klinischen Studien als Referenz vorliegen. Die für die Studie notwendige Probandenzahl wurde bezugnehmend auf ähnliche Studiensettings ermittelt. Eine Studienpopulation von n=15 wurde als aussagekräftig und sinnvoll definiert. Bei einer angenommenen Drop-out Rate von 20% sollten mindestens 12 Probanden die Studie abgeschlossen haben. Die Probanden wurden vor Studienbeginn umfassend über das Ziel, den Ablauf, die Risiken, die Tragweite und die Ein- und Ausschlusskriterien der Studie informiert. Offene Fragen konnten im anschließenden persönlichen Gespräch mit dem Studienleiter geklärt werden. Bei Einverständnis und Eignung für die Studie wurde eine datierte Einverständniserklärung unterzeichnet. Alle wesentlichen Unterlagen werden für mindestens 10 Jahre aufbewahrt und gemäß den gesetzlichen Bestimmungen archiviert.

### 3.3.2 Einschlusskriterien

Die definierten Ein- und Ausschlusskriterien dienen der Minimierung unerwünschter Einflussgrößen auf den Hautzustand der Probanden

Für die Studienteilnahme mussten folgende Kriterien erfüllt werden:

- Männliches oder weibliches Geschlecht
- Alter zwischen 18 und 65 Jahren
- Kaukasier
- Nichtraucher
- Fähigkeit, die Tragweite, Risiken und das Wesen der Studie zu verstehen und selbständig über die Teilnahme zu entscheiden
- Vorliegen der unterschriebenen und datierten Einverständniserklärung

### 3.3.3 Ausschlusskriterien

Probanden, die eines oder mehrere der folgenden Kriterien erfüllten, wurden nicht für diese Studie zugelassen:

- Teilnahme an einer anderen klinischen Prüfung ab 4 Wochen vor Einschlussdatum
- Starke Behaarung im Bereich der Messareale
- Erosive, ulzeröse oder stark entzündliche Läsionen im Bereich der Messareale
- Einnahme von Retinoiden, Lipidsenkern oder Diuretika
- Applikation von entzündungshemmenden topischen oder systemischen Präparaten: Calcineurininhibitoren, Glukokortikoide, nichtsteroidale Antiphlogistika (NSAR), disease-modifying anti-rheumatic drugs (DMARDs) oder Phytopharmaka während der Studie
- Verwendung vasoaktiver over-the-counter (OTC) Produkte, d.h. apothekenpflichtiger, rezeptfreier Medikamente, z.B. Antihistaminika oder Erkältungsmittel, die Phenylpropanolamin bzw. Phentolamin enthalten, während der Studie
- Verwendung von Kosmetika, Pflegeprodukten oder Medizinprodukten im Bereich der volaren Unterarme während der Studie
- Kaffeegenuss während der Studie

### 3.4 Studienmaterial

#### 3.4.1 Natriumlaurylsulfat (SLS)-Patches

Die Haut der Probanden war vor Studienbeginn im Bereich der volaren Unterarme intakt und es bestand kein Hinweis auf eine Schädigung der Hautbarriere. Um eine derartige Schädigung zu simulieren und um vergleichbare Ausgangsbedingungen der untersuchten Hautareale für die Studie zu erlangen, wurden die Testareale aller Probanden einheitlich für 24 Stunden mit SLS in 0,5%-iger Konzentration behandelt. SLS ist ein in der dermatologischen Forschung etabliertes Mittel zur artifiziellen Irritation der Haut (Tupker et al., 1997). Die Anwendung der Patches erfolgte gemäß den „Guidelines on sodium lauryl sulfate (SLS) exposure tests“ (Tupker et al., 1997). Die Filterpapierscheiben wurden mit 0,5% SLS getränkt und anschließend in Finn Chambers, FCS – Extra Large eingelegt. Hierbei handelt es sich um Aluminiumkammern, die mit Hilfe eines Pflasters auf der Haut fixiert werden. Die Kammern gewährleisten ein enges Anliegen auf der Haut, sodass die Testsubstanz auf das vorgesehene Areal wirken kann ohne herauszulaufen. Der Vorteil dieser Methode besteht insbesondere darin, dass in relativ kurzer Zeit eine effektive Irritation der Haut hervorgerufen wird. Außerdem sind die Ergebnisse aufgrund der einfachen Anwendung gut reproduzierbar (Tupker et al., 1997).

#### 3.4.2 Prüfpräparate

Die Prüfpräparate und die Vehikel wurden von Bombastus-Werke AG, Wildsruffer-Str. 170, 01705 Freital, Deutschland hergestellt. Bombastus-Werke AG hat diese Studie in Auftrag gegeben.

##### **Prüfpräparate**

Hydrophile Cremegrundlage mit 1% Salbeiextrakt

Hydrophile Cremegrundlage mit 4% Salbeiextrakt

Hydrophile Cremegrundlage mit 8% Salbeiextrakt

Lipophile Cremegrundlage mit 3% Salbeiextrakt

Lipophile Cremegrundlage mit 12% Salbeiextrakt

Lipophile Cremegrundlage mit 25% Salbeiextrakt

##### **Vehikel**

Hydrophile Cremegrundlage

Lipophile Cremegrundlage

### Spezifikation Salbeiextrakt

Standardisierter wässriger Salbeiextrakt aus frischen bzw. frisch eingefrorenen Blättern

Trockenrückstand in %: min. 5,0 / max. 8,0

pH-Wert: min. 4,0 / max. 6,5

Rosmarinsäure in %: min 0,10 / max. 0,67

Luteolin-7-glucosid in %: min. 0,05 / max. 0,50

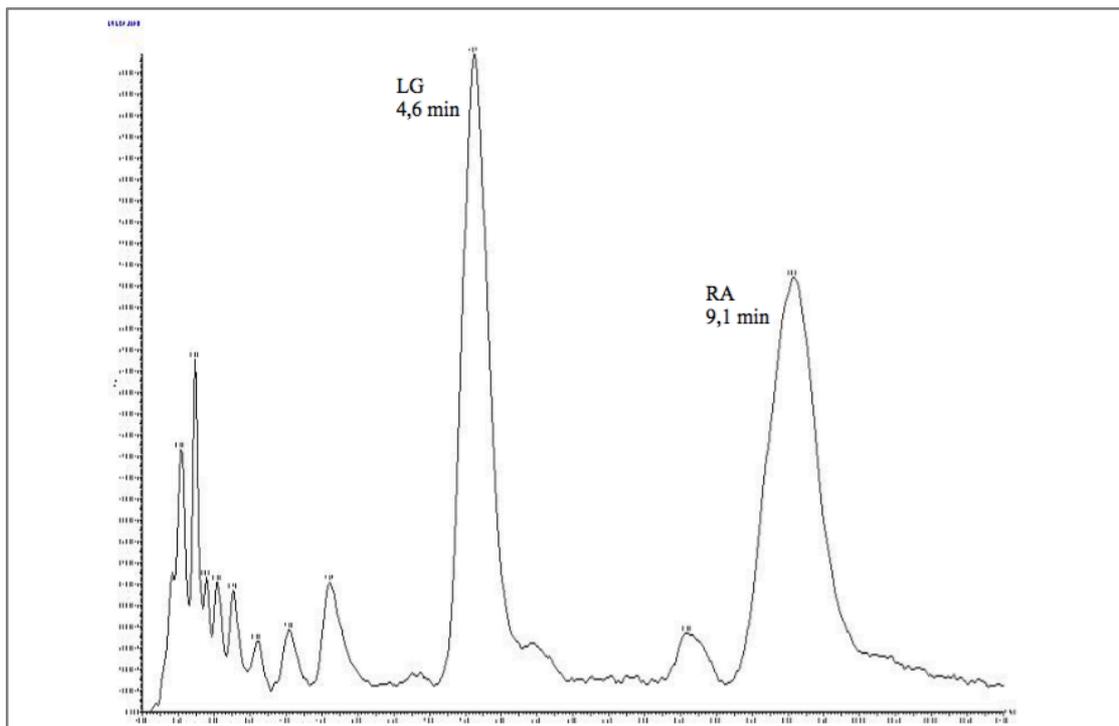


Abb. 2: HPLC-UV-Chromatogramm eines wässrigen Blätter-Extrakts (LV12A3) von *Salvia officinalis* L. bei 330 nm, Luteolin-7-glucosid (LG) bei 4,6 min, Rosmarinsäure (RA) bei 9,1 min (Wasser-Acetonitril-Gradient: 10 - 13 % Acetonitril in 11 min)

Tab. 2: Inhaltsstoffe der hydrophilen Cremegrundlage und der lipophilen Cremegrundlage

<b>Hydrophile Cremegrundlage</b>	<b>Lipophile Cremegrundlage</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Butyrospermum Parkii Butter</li> <li>• Simmondsia Chinensis Seed Oil</li> <li>• Persea Gratissima Oil</li> <li>• Glyceryl Stearate</li> <li>• Cetyl Palmitate</li> <li>• Cetearyl Alcohol</li> <li>• Cetearyl Polyglucosid</li> <li>• Glycerin</li> <li>• Xanthan Gum</li> <li>• Natrium Benzoat, Kalium Sorbat</li> <li>• Aqua</li> <li>• Natrium Lactat</li> <li>• Lactinsäure</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cera alba</li> <li>• Persea Gratissima Oil</li> <li>• Polyglyceryl-2- dipolyhydroxystearat</li> <li>• Cetyl Palmitat</li> <li>• Magnesium Stearat</li> <li>• Aqua</li> <li>• Natrium Lactat</li> <li>• Lactinsäure</li> <li>• Glycerin</li> <li>• Kalium Sorbat</li> </ul>

### 3.4.3 Ethische und rechtliche Aspekte

Die Studie wurde unter Berücksichtigung der Kosmetikverordnung (2011) durchgeführt. Zur Gewährleistung der Qualität und Aussagekraft wurde die vorliegende Studie entsprechend den ICH-GCP-Richtlinien (1996), der Deklaration von Helsinki (2013) und den Vorschriften der GCP-Verordnung (2006) durchgeführt (Deklaration von Helsinki, 2013.; Hutchinson, 1997).

### 3.4.4 Randomisierung und Verblindung

Die Randomisierung der Prüfpräparate bzw. der Vehikel und der Leerkontrolle zu den nummerierten Testarealen wurde mithilfe des Computerprogramms Reasearch Randomizer (Urbaniak und Plous, 2013) durchgeführt. Der Randomisierungsplan war während der Studie nur der unverblindeten Study Nurse und der Studienleitung bekannt. Das Auftragen der Prüfpräparate und der Vehikel fand räumlich getrennt von den Messungen statt.

### 3.4.5 Ablauf der Studie

Die Studie wurde vom 7. bis 13. Dezember 2014 in der Klinik für Dermatologie und Venerologie im Universitätsklinikum Halle (Saale) durchgeführt. Am ersten Tag wurden die Probanden ausführlich und darüber informiert, dass ein Abbruch der Studie jederzeit ohne Angabe von Gründen möglich ist. Unerwünschte Wirkungen der verwendeten Testpräparationen oder der SLS-Patches, wie zum Beispiel Hautreizungen oder allergische Reaktionen, sollten dem Studienleiter umgehend mitgeteilt werden. Ein Ausschluss von Seiten des Studienleiters durch

Non-Compliance der Probanden war jederzeit möglich. Die Testareale im Bereich der volaren Unterarme wurden durch die unverblindete Study Nurse mit einer Schablone markiert und mit den Ziffern von 1-10 nummeriert. Neun der markierten Areale wurden mit den SLS-Patches versehen. Jeweils ein Areal blieb als Kontrollareal unbehandelt (Abb. 3). Die Haut unmittelbar neben dem Handgelenk und Ellenbeuge wurde von der Behandlung mit SLS ausgespart, da der transepidermale Wasserverlust in diesen Regionen von dem transepidermalen Wasserverlust des restlichen Unterarms abweichen kann (Tupker et al., 1997).

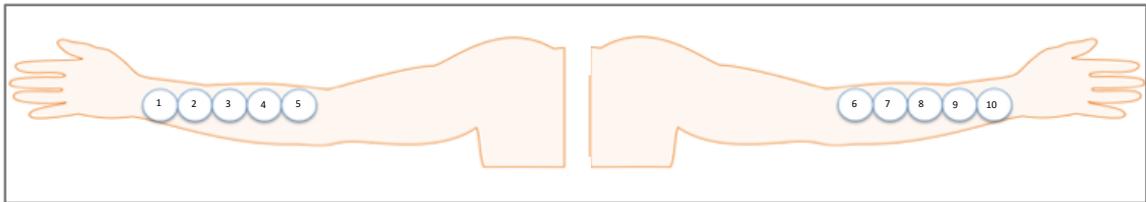


Abb. 3: Beispiel des Applikationsschemas; volarer Unterarm rechts, Testareal 1-5; volarer Unterarm links, Testareal 6-10

Die SLS Patches wurden für 24 Stunden auf der Haut belassen und am zweiten Studientag von der Study Nurse entfernt. Die Teststellen wurden mit Leitungswasser gereinigt und trocken getupft. Es folgte eine Stunde Wartezeit bis zur ersten Messung, da die Messwerte für den transepidermalen Wasserverlust innerhalb der ersten 60 Minuten nach Entfernen der SLS Patches stark erhöht sind und daher erst ab 60 Minuten stabile Werte gemessen werden können (Tupker et al., 1997). Die Messungen erfolgten unter Berücksichtigung der entsprechenden Guidelines (Berardesca et al., 1997; Fullerton et al., 1996; Pinnagoda, 1990).

Die Messungen erfolgten stets in dieser Reihenfolge:

1. Colorimetrie
2. Tewametrie
3. Corneometrie

Die erhobenen Messwerte wurden in einem Case Report Form (CRF) erfasst. Nach der Messung wurden die Prüfpräparate und die Vehikel durch die Study Nurse entsprechend dem Randomisierungsplan auf acht von neun der mit SLS vorbehandelten Hautareale appliziert. Die Applikation erfolgte dabei mit einem Spatel, sodass bei jeder Applikation möglichst die gleiche Menge Creme auf die Haut aufgebracht wurde. Ein durch SLS geschädigtes Areal diente als Kontrollareal und wurde weder mit den Prüfpräparaten noch mit den Vehikeln behandelt. Diese Vorgänge wurden alle 12 Stunden über 6 Tage wiederholt. Insgesamt wurden 10 Messdurchgänge durchlaufen.



Abb. 4: Applikation der Prüfpräparate und der Vehikel mit einem Spatel durch die Study Nurse

Tab. 3: Ablauf der Studie

<b>Ablauf</b>	<b>Tag 1</b>	<b>Tag 2</b> <i>Nach 24h</i>	<b>Tag 2</b> <i>Nach 1h</i>	<b>Tag 3-7</b> <i>Nach je 12h</i>
Aufklärung und Einwilligung	X			
Prüfung der Ein- und Ausschlusskriterien	X			
Markierung der Testareale	X			
Präparieren der Testareale mit SLS-Patches	X			
Entfernung der SLS-Patches		X		
Colorimetrie			X	X
TEWL			X	X
Corneometrie			X	X
Applikation der Prüfpräparate und der Vehikel			X	X

### 3.5 Untersuchungsmethoden

#### 3.5.1 Tewametrie

Die Messung des transepidermalen Wasserverlustes wurde mit dem Vapometer (Vapometer, Dolphin Technology AG, Bergisch Gladbach, Deutschland) durchgeführt. Dabei handelt es sich um eine nicht-invasive Messmethode der Wasserbindungskapazität der menschlichen Haut. Der transepidermale Wasserverlust gilt als einer der wichtigsten Parameter zur Beurteilung der Funktion der Hautbarriere sowie zur Beurteilung des Behandlungserfolgs von applizierten Kosmetikprodukten (Rogiers und Group, 2001).

Das Vapometer misst die über die Hornschicht verdampfte Wassermenge. Hierfür verfügt es über eine zylindrische Messkammer, in der sich eine Sonde für die Messung der relativen Feuchtigkeit und der Temperatur befindet. Während der Messung wird die Messkammer dicht auf das zu untersuchende Hautareal gesetzt und die Messsonde erfasst automatisch den Anstieg der relativen Feuchtigkeit. Der ermittelte Messwert wird als digitaler Zahlenwert angegeben in der Einheit  $\text{g/m}^2\text{h}$  angegeben. Beim Aufsetzen des Gerätes auf die Haut muss darauf geachtet werden, dass zwischen der Messsonde und dem Hautareal keine Luft zirkuliert sodass ein Feuchtigkeitsaustausch unterbunden wird. Um zusätzlichen Wasserverlust zu vermeiden darf das Gerät nicht zu fest aufgesetzt werden. Nach jeder Messung stellt sich das Gerät wieder auf die Umgebungsfeuchtigkeit und -temperatur ein. Der ermittelte transepidermale Wasserverlust ist sowohl von der Wasserbindungskapazität der Hornschicht als auch von der Aktivität der Schweißdrüsen in dem untersuchten Hautareal abhängig (Pinnagoda, 1990; Rogiers und Group, 2001).

Nach Abschluss der Messung wird der ermittelte Messwert im Probanden-CRF notiert. Zur besseren Vergleichbarkeit der Messwerte innerhalb der Studienpopulation wurde ein Tewametrie-Index berechnet. Dieser Index setzt den Tewametrie-Wert des Testareals und den Tewametrie-Wert des geschädigten unbehandelten Hautareals (Kontrollareal) ins Verhältnis.

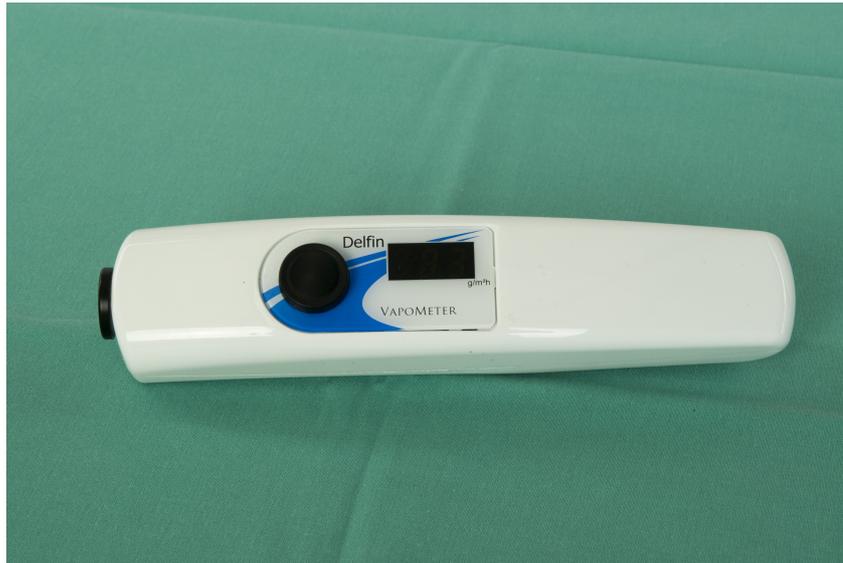


Abb. 5: Das Vapometer (Delfin Technologies Ltd, Kuopio, Finnland)

### 3.5.2 Corneometrie

Die Corneometrie, zur Erfassung des Feuchtigkeitsgehalts der Hornschicht, wurde in dieser Studie mit dem Corneometer (Corneometer CM820, Courage + Khazaka electronic GmbH, Köln, Deutschland) durchgeführt. Dabei handelt es sich um eine nicht-invasive Messmethode (Berardescal et al. 1997).

Die quadratische Messsonde mit der Größe von 7x7mm verfügt über einen gefederten Kontrollzylinder, der reproduzierbare Messergebnisse gewährleistet. Das Hautareal muss eben sein und sollte keine starke Behaarung aufweisen. Für die Messung muss die Messsonde senkrecht mit gleichem Druck aufgesetzt werden. Die Messdauer beträgt 1 Sekunde und verhindert somit das Auftreten eines Okklusionseffekts (Feuchtigkeitsstau). Die Messung beruht auf den unterschiedlichen Dielektrizitätskonstanten von Wasser und dem Messobjekt. Die meisten Stoffe weisen eine Dielektrizitätskonstante von  $<7$  auf, die Dielektrizitätskonstante von Wasser beträgt 81. Im Messkopf befinden sich Leiterbahnen, die durch Glasplättchen von der Haut getrennt sind. Die Konstruktion des Corneometers entspricht damit einem Kondensator, in dem die Haut als Dielektrikum wirkt. Nachdem der Messkopf auf das zu untersuchende Hautareal aufgesetzt ist, wird mittels niederfrequentem Strom ein Elektrodenüberschuss bzw. ein Elektronenmangel in den zwei Leiterbahn erzeugt. Dadurch entsteht ein elektrisches Streufeld, welches die Hautoberfläche durchdringt. Durch das Messobjekt selbst fließt allerdings nahezu kein Strom. Die Wassermoleküle der Hornschicht richten sich in dem elektrischen Feld aus und führen zur Kapazitätsänderung des Kondensatorfeldes in Abhängigkeit vom Wassergehalt der Hornschicht. Je höher die gemessene Dielektrizitätskonstante der Haut ist, desto höher ist der Wasseranteil im untersuchten Hautareal. Dieser Wert wird vom Gerät automatisch erfasst und als Zahlenwert in relativen Einheiten wiedergegeben. Die Eindringtiefe des elektrischen Streufelds

beträgt ungefähr  $30\mu\text{m}$  und gewährleistet somit, dass überwiegend der Feuchtigkeitsgehalt der Hornschicht gemessen wird (Fluhr et al., 1999). Die ermittelten Einheiten liegen zwischen 0 (kein Wasser) und 120 (auf Wasser) und geben den Grad der Hautfeuchtigkeit an. Eine direkte Zuordnung der Messwerte zum Feuchtigkeitszustand der Haut ist allerdings nicht möglich; die Werte müssen in Relation ausgewertet werden.

Nach Abschluss der Messung wird der ermittelte Messwert im Probanden-CRF notiert. Zur besseren Vergleichbarkeit der Messwerte innerhalb der Studienpopulation wurde ein Corneometrie-Index berechnet. Dieser Index setzt den Corneometrie-Wert des Testareals und den Corneometrie-Wert des geschädigten unbehandelten Hautareals (Kontrollareal) ins Verhältnis.



Abb. 6: Das Corneometer CM 820 (Courage + Khazaka, Köln, Deutschland)

### 3.5.3 Colorimetrie

Die Farbmessung der Hautoberfläche wurde mit dem Chroma Meter (CR-200 Minolta) durchgeführt. Die Intensität der Hautrötung (Erythem) wird durch den gemessenen Rotanteil bestimmt und lässt Rückschlüsse über die Entzündungsreaktion der Haut zu. Das Chroma Meter ist ein für diesen Zweck vielfach verwendetes Messinstrument und zeichnet sich durch eine gute Reproduzierbarkeit der Messergebnisse aus (Serup und Agner, 1990).

Der Rotanteil wird dabei gemäß einem definierten Farbsystem gemessen. Dieses Farbsystem, das auch als  $L^*a^*b^*$ -Farbraum bezeichnet wird, wurde 1976 von der *Commission Internationale de l'Eclairage* (CIE) eingeführt und beschreibt alle wahrnehmbaren Farben. Dieses Farbsystem ordnet die existierenden Farben in einem virtuellen zylindrischen Volumen an. Dabei steht  $L^*$  für die Farbhelligkeit,  $-a^*/+a^*$  für die Farbabstufung auf der Grün-Rot-Achse und  $-b^*/+b^*$  für die Farbabstufung auf der Blau-Gelb-Achse. In der horizontalen Ebene wird neben dem Farbton auch die Sättigung angegeben. Je höher der Wert desto intensiver ist der Farbton. Ein intensiver Rotton

wird demnach durch einen hohen  $+a^*$ -Wert widergegeben (Serup und Agner, 1990). Der Messkopf des Chroma Meter CR-200 ist für die gleichmäßige Ausleuchtung des untersuchten Hautareals mit einer Hochleistungs-Xenon-Blitzröhre ausgestattet. Das Beleuchtungssystem arbeitet nach dem Zweistrahlprinzip und verfügt über sechs hochempfindliche Silizium-Fotodioden. Während des Messvorgangs wird die Haut mit dem weißen Licht der Xenon-Blitzröhre geblitzt. Das zurückgeworfene Streulicht wird gefiltert und von den Fotodioden werden die Farben Rot, Grün und Blau aufgenommen und automatisch mit dem CIE-System abgeglichen. Diese Messmethode wird als Tristimulus bezeichnet und entspricht dem Vorgang des physiologischen Sehens (Fullerton et al., 1996). Vor jedem neuen Messdurchgang wird mit dem Colorimeter ein Weißabgleich mithilfe einer für diesen Zweck von der Gerätefirma zur Verfügung gestellten Unterlage durchgeführt. Für die Messung wird der Messkopf senkrecht auf das zu untersuchende Hautareal aufgesetzt. Durch Drücken des Startknopfes am Gerät wird der Messvorgang gestartet. Anschließend druckt das Gerät die  $L^*$   $a^*$ - und  $L^*$   $b^*$ -Werte aus.

Nach Abschluss der Messung wird der ermittelte Messwert im Probanden-CRF notiert. In der durchgeführten Studie wurde ausschließlich der  $+a^*$ -Wert notiert, da dieser Rückschlüsse über die farbliche Ausprägung des Erythems ermöglicht. Zur besseren Vergleichbarkeit der Messwerte innerhalb der Studienpopulation wurde ein Colorimetrie-Index berechnet. Dieser Index setzt den Colorimetrie-Wert des Testareals und den Colorimetrie-Wert des geschädigten unbehandelten Hautareals (Kontrollareal) ins Verhältnis.



Abb. 7: Das Chroma Meter CR-200 (Minolta, Osaka, Japan)

### 3.6 Statistische Analyse

Die erfassten Daten wurden nach Abschluss der Studie von zwei Personen zeitlich getrennt in eine Excel Tabelle übertragen. Zur Fehlerminimierung bei der Datenübertragung wurden diese miteinander abgeglichen. Die bereinigten Datensätze wurden dem Randomisierungsplan zugeordnet und zur biometrischen Auswertung verwendet.

Die statistische Auswertung der erhobenen Daten erfolgte mit dem Programm SigmaStat 4.0. Als Signifikanzniveau wurde  $\alpha = 0,05$  definiert.

Ein Drop-out führte zu einem unvollständigen Datensatz nach 7 Messungen, sodass in den letzten drei Messdurchgängen für jeden Messparameter 14 Datensätze erhoben wurden. Der fehlende Datensatz wurde bei der Auswertung der letzten drei Messungen ausgeschlossen.

Zur besseren Vergleichbarkeit der Messwerte wurde jeweils ein Index-Wert berechnet. Hierfür wurde in jeder Messreihe jeweils der Messwert des behandelten Hautareals durch den Messwert des unbehandelten Hautareals dividiert.

Anhand des Shapiro-Wilk-Tests wurde nachgewiesen, dass die Messergebnisse nicht normalverteilt sind. Der Levene-Test zeigte die Varianzinhomogenität der Daten auf. Daher wurde im Folgenden der nicht-parametrische Friedman-Test angewendet. Dieser Test untersucht durch Bildung einer Rangreihe, ob sich die Mediane der behandelten Hautareale voneinander unterscheiden. Wurden Unterschiede ermittelt, schloss sich zur Überprüfung der Signifikanz der Chi-Quadrat-Test an. Als Post-Hoc-Test wurde der Dunn's Test durchgeführt. Dieser ermittelte zu welchen Messzeitpunkten signifikante Unterschiede zum Ausgangswert auftraten.

Für die graphische Darstellung der Ergebnisse wurden Boxplots erstellt. Boxplots ermöglichen einen guten Überblick über die Verteilung der ermittelten Messwerte und ermöglichen eine leichte Identifizierung von Ausreißern, die durch Kreise dargestellt werden. Die jeweils obere und untere Begrenzung der Box wird als oberes bzw. unteres Quartil bezeichnet und schließt die Messwerte zwischen der 25. und 75. Perzentile ein. In dieser Box liegen also 50% der ermittelten Messwerte. Die horizontale Linie innerhalb der Box stellt den Median, bzw. die 50. Perzentile dar. Die oberhalb und unterhalb der Box eingezeichneten horizontalen Striche schließen alle Einzelwerte zwischen der 5. und der 95. Perzentile ein. Werte außerhalb der 5. und 95. Perzentile sind als Punkte dargestellt. Die Lagemaße Median sowie oberes und unteres Quartil sind robust gegen Ausreißer.

## **4 Ergebnisse**

### **4.1 Studienpopulation**

Es wurden insgesamt 15 Probanden (w=9, m=6) in die Studie eingeschlossen. Das Durchschnittsalter der Probanden betrug 26,3 Jahre (Range: 19-41 Jahre). Ein Proband wurde wegen mangelnder Compliance im Verlauf der Studie nach 72 Stunden ausgeschlossen, sodass 93,3% der Probanden die Studie prüfplankonform beendeten.

### **4.2 Wirkung von SLS auf die Irritation und die Barrierefunktion der Haut**

Um die Wirksamkeit der Prüfpräparate auf die geschädigte Hautbarriere zu untersuchen, wurde die intakte Haut mit SLS (0,5%) über 24 Stunden vorbehandelt. Im Folgenden wird jeweils der Tewametrie-Index, der Corneometrie-Index und der Colorimetrie-Index der definierten Messzeitpunkte mit dem Index-Messwert zum Messzeitpunkt t<sub>0</sub> (Baseline) verglichen.

#### **4.2.1 Tewametrie**

Der transepidermale Wasserverlust war in dem mit SLS behandelten Hautareal ab der ersten Messung bei allen Probanden höher als im unbehandelten Hautareal (Abb. 8). Ein stetiger Anstieg des ermittelten Median des transepidermalen Wasserverlustes war bis zum Messzeitpunkt nach 24 Stunden nachweisbar. Nach 24 Stunden sanken die Messwerte im geschädigten Areal deutlich und näherten sich den Werten der intakten Haut. Allerdings war der Wasserverlust nach SLS Behandlung bis zum Studienende im Mittel mindestens 100% größer als in der ungeschädigten Haut. Große Messschwankungen traten insbesondere innerhalb der ersten 36 Stunden auf.

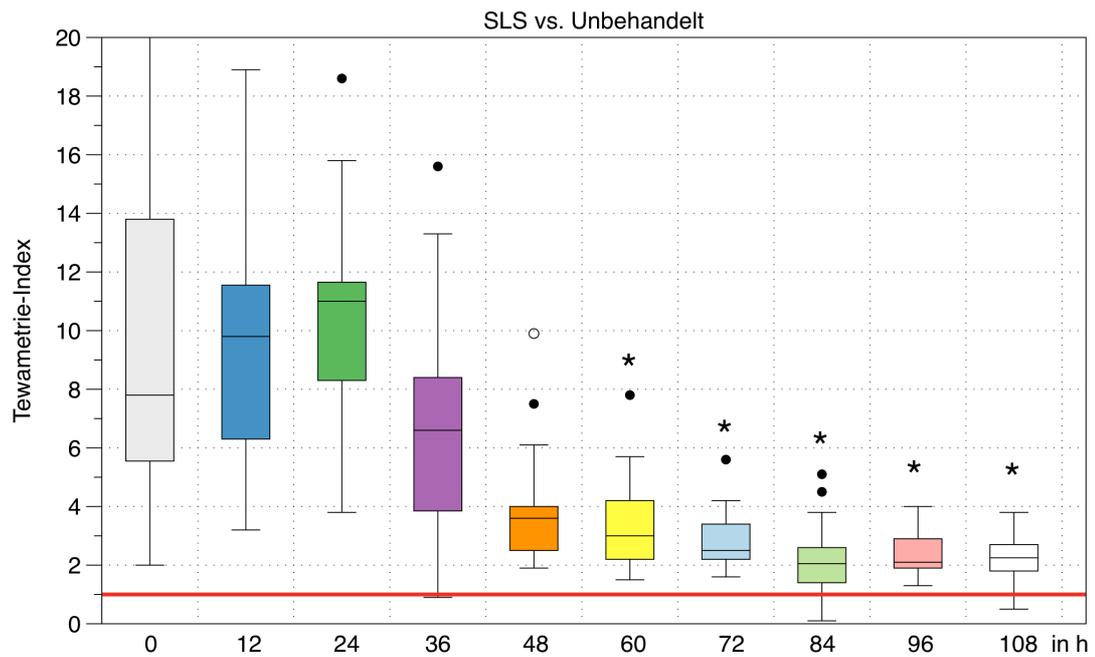


Abb. 8: Darstellung des Tewametrie-Index in Abhängigkeit zum Messzeitpunkt t0 (Baseline) im zeitlichen Verlauf, \* = Statistisch signifikanter Unterschied der Messwerte zum Zeitpunkt x zur Baseline (t0),  $p \leq 0,05$

#### 4.2.2 Corneometrie

Der in der Tewametrie objektivierte gesteigerte Wasserverlust über die Haut war auch in der Corneometrie nachweisbar. Der Median des Corneometrie-Index weist auf einen höheren Feuchtigkeitsgehalt der Hornschicht in den geschädigten Hautarealen innerhalb der ersten 12 Stunden der Studie hin (Abb. 9). Daher war die Abnahme des Wassergehalts der Hornschicht in den ersten 12 Stunden bei den meisten Studienteilnehmern noch nicht eindeutig erkennbar. Ab 24 Stunden bis Studienende war der Median der Corneometrie Messung geringer als in der unbehandelten Haut. Ab 36 Stunden war die Hornschichthydratation im Mittel um 70-100% im Vergleich zum Messzeitpunkt t0 reduziert. Ab 60 Stunden nach Studienbeginn bis Studienende waren die Werte signifikant geringer im Vergleich zum Messzeitpunkt t0.

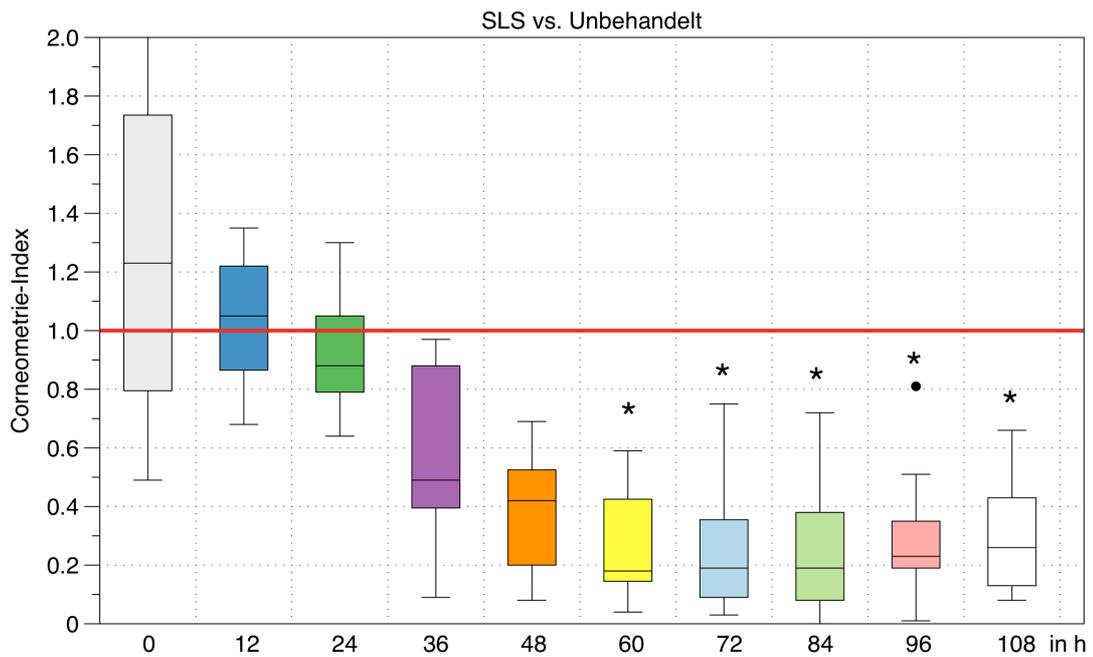


Abb. 9: Darstellung des Corneometrie-Index in Abhängigkeit zum Messzeitpunkt  $t_0$  (Baseline) im zeitlichen Verlauf, \* = Statistisch signifikanter Unterschied der Messwerte zum Zeitpunkt x zur Baseline ( $t_0$ ),  $p \leq 0,05$

#### 4.2.3 Colorimetrie

Der Median des Colorimetrie-Index stieg bis zur Messung nach 24 Stunden stetig an (Abb. 10). Der mittlere Messwert war ab 12 Stunden nach Studienbeginn bis Studienende konstant höher als zum Messzeitpunkt  $t_0$ . Die Rötung der Haut war nach der artifiziellen Schädigung durch SLS (0,5%) inter- und intraindividuell unterschiedlich stark ausgeprägt (Abb. 11 und 12). Dies spiegelt sich auch in der Streuung der Messwerte wider. Signifikant erhöht waren die Messwerte 24, 36 und 60 Stunden nach Studienbeginn.

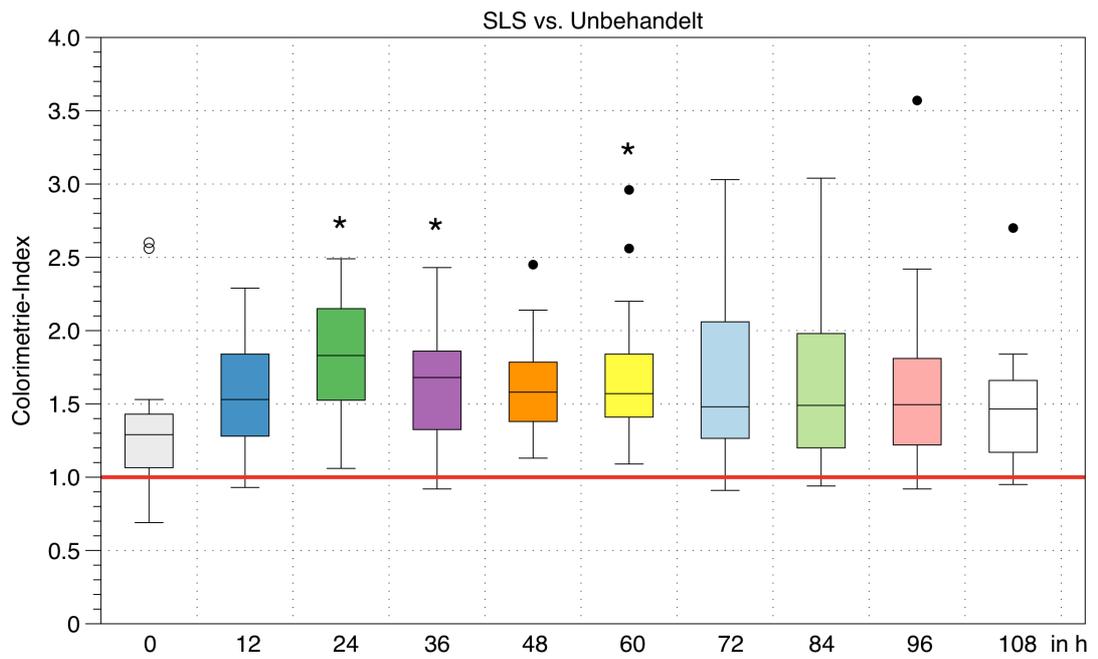


Abb. 10: Darstellung des Colorimetrie-Index in Abhängigkeit zum Messzeitpunkt  $t_0$  (Baseline) im zeitlichen Verlauf, \* = Statistisch signifikanter Unterschied der Messwerte zum Zeitpunkt  $x$  zur Baseline ( $t_0$ ),  $p \leq 0,05$



Abb. 11: Induziertes Erythem auf zuvor intakter Haut mit gleichmäßiger Rötung der Testareale



Abb. 12: Induziertes Erythem auf zuvor intakter Haut mit unterschiedlich stark ausgeprägtem Erythem an den verschiedenen Testarealen

### 4.3 Wirkung der hydrophilen Prüfpräparate auf die Irritation und die Barrierefunktion der Haut

Es wurden drei hydrophile Prüfpräparate mit jeweils unterschiedlicher Salbeikonzentration (1%, 4%, 8%) verwendet. Zur Untersuchung der Wirksamkeit der hydrophilen salbeihaltigen Prüfpräparate wurde bei jedem Probanden je ein geschädigtes Hautareal mit einem der drei hydrophilen Prüfpräparate behandelt. Die ermittelten Messwerte wurden jeweils mit den Messwerten des geschädigten aber unbehandelten Hautareals ins Verhältnis gesetzt. Im Folgenden werden die im Studienverlauf erhobenen Index-Werte mit dem Index-Wert zum Messzeitpunkt t<sub>0</sub> (Baseline) verglichen. Dadurch ist ein Rückschluss auf den Einfluss der hydrophilen Prüfpräparate im zeitlichen Verlauf möglich.

#### 4.3.1 Tewametrie

Der mittlere transepidermale Wasserverlust war unter Anwendung des 1%-igen Prüfpräparates ab 24 Stunden nach Studienbeginn um 10-20% geringer als zum Messzeitpunkt t<sub>0</sub>. Dieser Effekt hielt bis zum Studienende (Abb. 13). Im Studienverlauf wurde zu keinem Messzeitpunkt ein statistisch signifikant geringerer transepidermaler Wasserverlust der behandelten Hautareale im Vergleich zum Ausgangswert ermittelt.

Das hydrophile 4%-ige und das hydrophile 8%-ige Prüfpräparat beeinflussten den mittleren Messwert des transepidermalen Wasserverlustes in den behandelten Hautarealen im Vergleich zum Messzeitpunkt t0 nicht wesentlich (Abb. 14, 15). Ein signifikant geringerer Wasserverlust im Vergleich zum Ausgangswert wurde zu keinem Messzeitpunkt verzeichnet.

Eine breite Streuung der ermittelten Messwerte ist unter Anwendung aller drei Prüfpräparate erkennbar. Einzige Ausnahme stellt die Messung nach 60 Stunden unter Anwendung des 1% -igen hydrophilen Prüfpräparats dar. Die mittleren Messwerte des transepidermalen Wasserverlustes blieben bis Studienende nahezu konstant und unterschieden sich kaum von denen des hydrophilen Vehikels (Abb. 31).

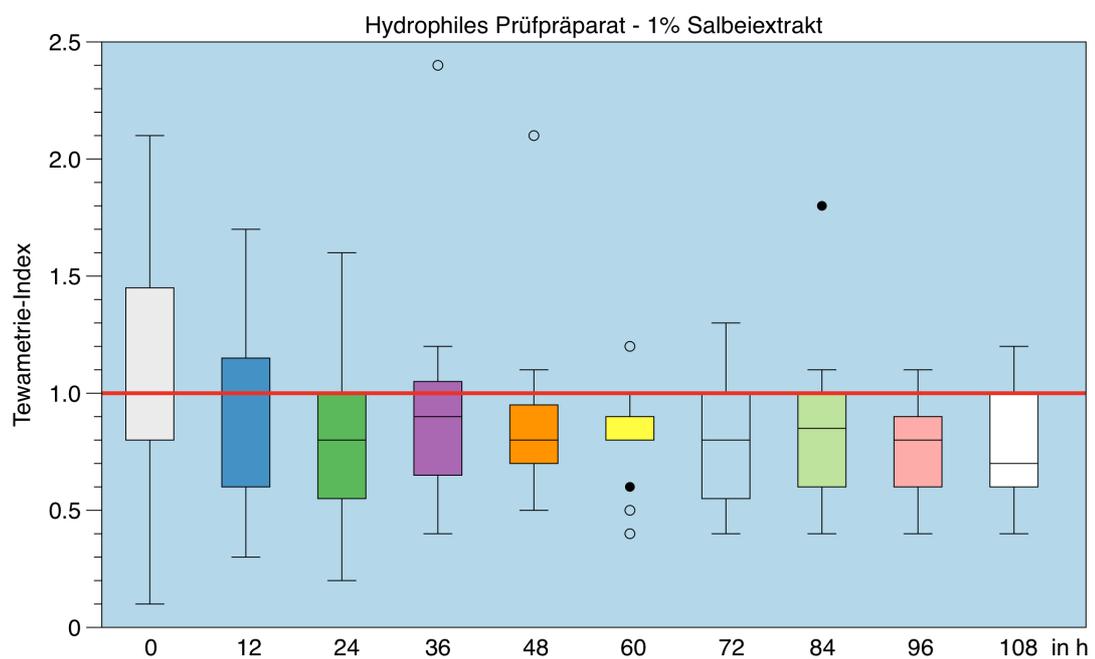


Abb. 13: Darstellung des Tewametrie-Index in Abhängigkeit zum Messzeitpunkt t0 (Baseline) im zeitlichen Verlauf bei Applikation von 1% Salbeiextrakt im hydrophilen Prüfpräparat; \* = Statistisch signifikanter Unterschied der Messwerte zum Zeitpunkt x zur Baseline (t0),  $p \leq 0,05$

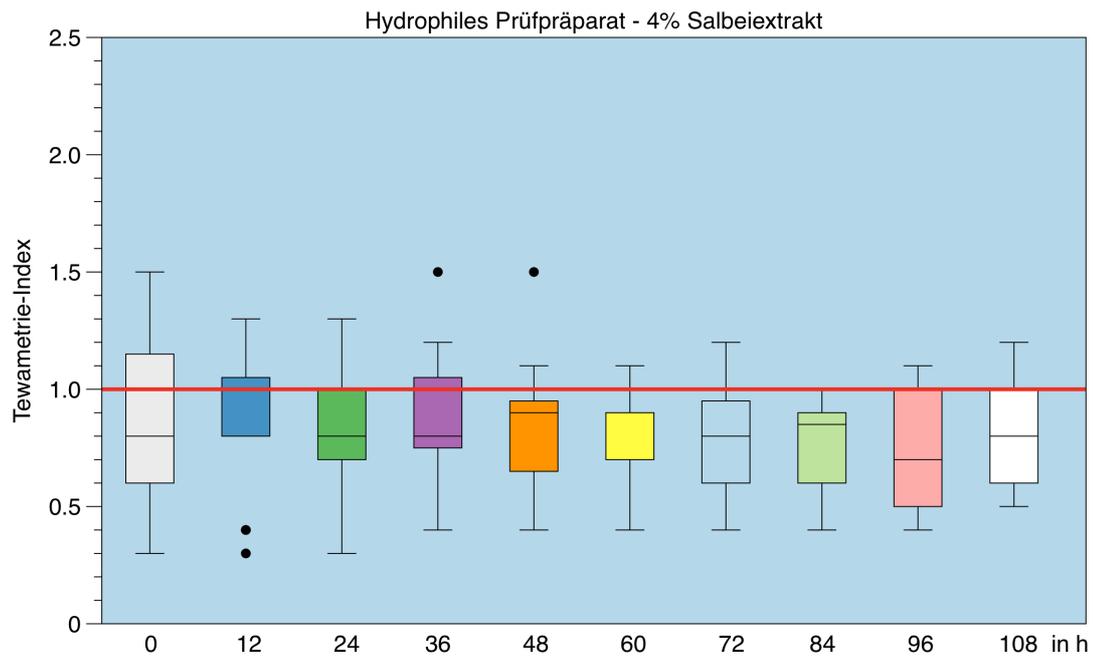


Abb. 14: Darstellung de Tewametrie-Index in Abhängigkeit zum Messzeitpunkt t0 (Baseline) im zeitlichen Verlauf bei Applikation von 4% Salbeiextrakt im hydrophilen Prüfpräparat; \* = Statistisch signifikanter Unterschied der Messwerte zum Zeitpunkt x zur Baseline (t0),  $p \leq 0,05$

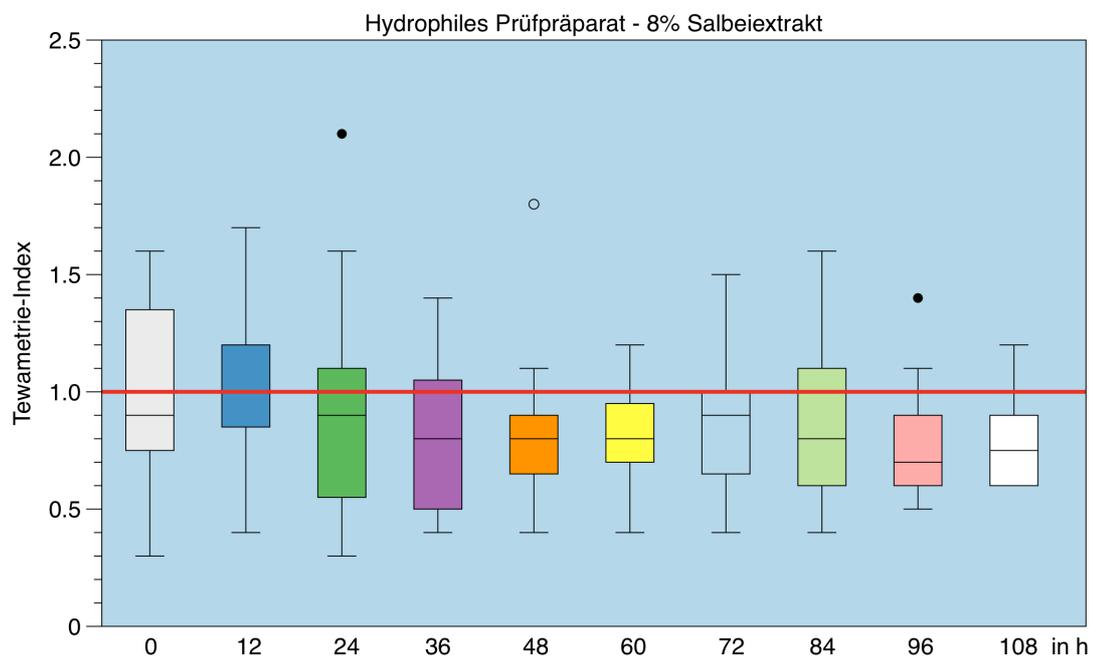


Abb. 15: Darstellung des Tewametrie-Index in Abhängigkeit zum Messzeitpunkt t0 (Baseline) im zeitlichen Verlauf bei Applikation von 8% Salbeiextrakt im hydrophilen Prüfpräparat; \* = Statistisch signifikanter Unterschied der Messwerte zum Zeitpunkt x zur Baseline (t0),  $p \leq 0,05$

#### 4.3.2 Corneometrie

Der Feuchtigkeitsgehalt der Hornschicht der geschädigten Hautareale stieg unter Behandlung mit dem 1%-igen hydrophilen Prüfpräparat im zeitlichen Verlauf der Studie bis 84 Stunden nach Studienbeginn stetig an (Abb. 16). Nach 12 Stunden war der mittlere Messwert der Hornschichthydratation größer im Vergleich zum Studienbeginn; eine Steigerung um mindestens 50 % setzte nach 48 Stunden ein. Die Messwerte streuten ab 48 Stunden nach Studienbeginn breit und eine signifikant höhere Hornschichthydratation war erst ab 60 Stunden bis Studienende nachweisbar. Ab diesem Zeitpunkt war der mittlere Messwert der Hydratation der Hornschicht um 100% höher als der Ausgangswert. Dieser Effekt hielt bis zum Ende der Studie an.

Unter Anwendung des 4% -igen hydrophilen Prüfpräparates war der mittlere Messwert der Hornschichthydratation erstmals 24 Stunden nach Studienbeginn höher als zu Studienbeginn (Abb. 17). 36 Stunden nach Studienbeginn war eine Steigerung des mittleren Messwertes um 50% im Vergleich zum Studienbeginn feststellbar. Ab 60 Stunden nach Studienbeginn bis Studienende war der mittlere Messwert des Feuchtigkeitsgehalts der Hornschicht in den behandelten Arealen signifikant höher im Vergleich zu den zu Studienbeginn erhobenen Messwerten und hielt bis zum Studienende an. Die Hornschichthydratation war ab diesem Zeitpunkt um mindestens 100% gesteigert. Auffällig ist die breite Streuung der Messwerte ab 60 Stunden nach Studienbeginn.

Unter Anwendung des 8%-igen hydrophilen Prüfpräparates zeigten die Messwerte der Hornschichthydratation eine steigende Tendenz im zeitlichen Verlauf (Abb. 18). Die mittleren Messwerte waren ab 48 Stunden nach Studienbeginn bis Studienende mindestens 50% höher, als der Ausgangswert, aber geringer als die mittleren Messwerte des 1% -igen und des 4% -igen hydrophilen Präparates (Abb. 16, 17). Statistisch signifikante Unterschiede im Vergleich zum Ausgangswert waren unter Applikation des 8%-igen hydrophilen Prüfpräparates nach 60, nach 72 und nach 96 Stunden nach Studienbeginn feststellbar. Auch in dieser Messreihe ist eine breite Streuung der Messwerte zu verzeichnen.

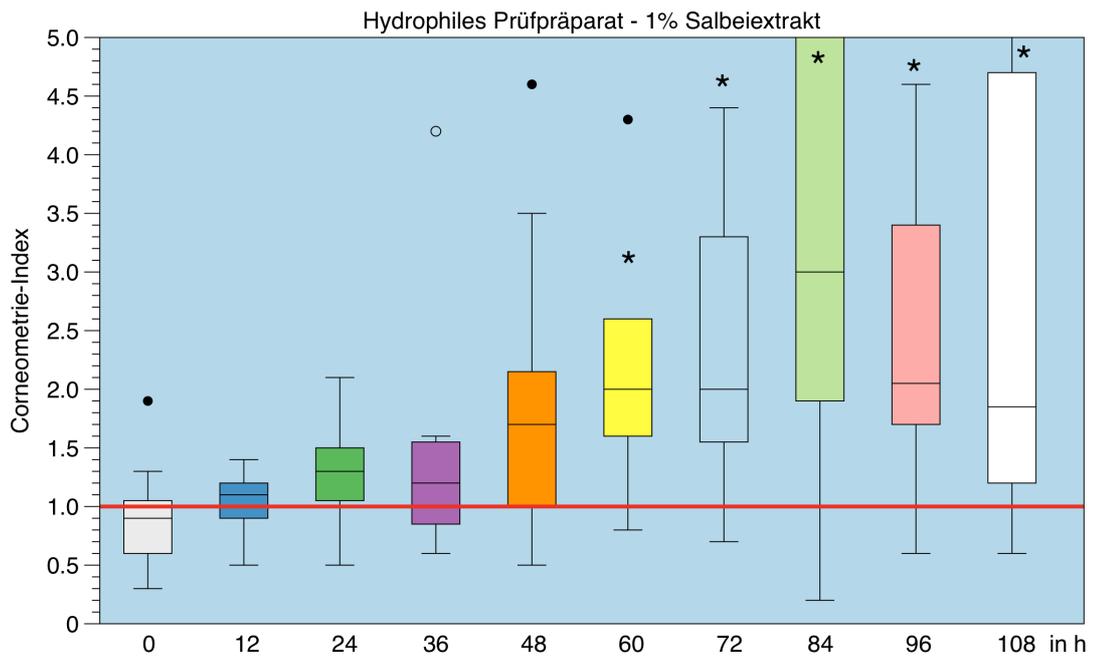


Abb. 16: Darstellung des Corneometrie-Index in Abhängigkeit zum Messzeitpunkt  $t_0$  (Baseline) im zeitlichen Verlauf bei Applikation von 1% Salbeiextrakt im hydrophilen Prüfpräparat; \* = Statistisch signifikanter Unterschied der Messwerte zum Zeitpunkt  $x$  zur Baseline ( $t_0$ ),  $p \leq 0,05$

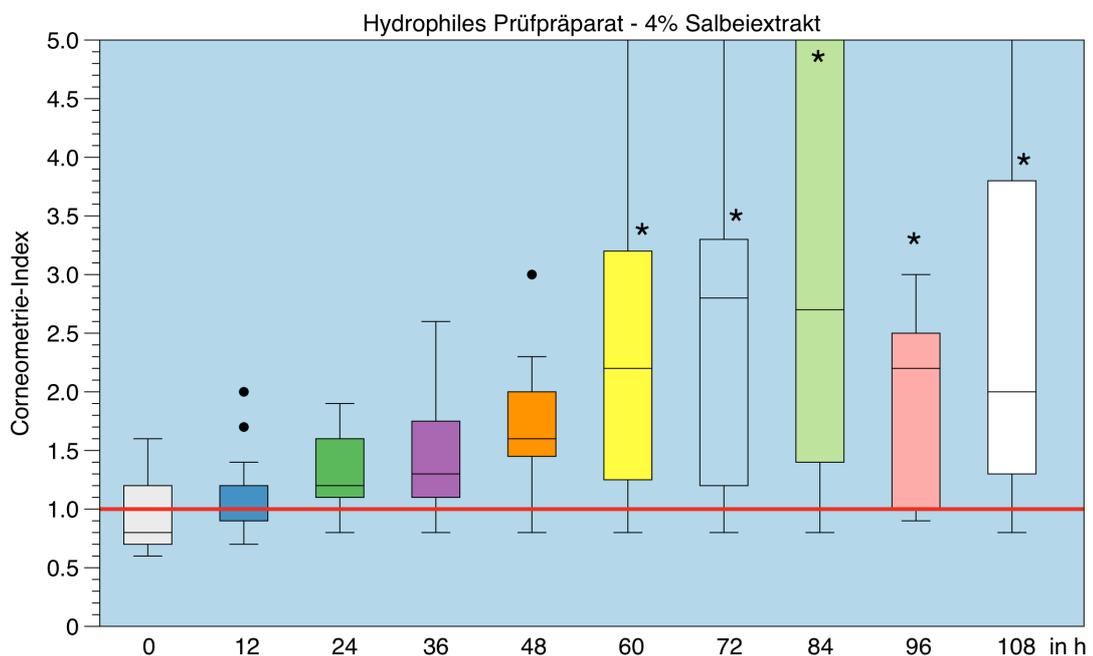


Abb. 17: Darstellung des Corneometrie-Index in Abhängigkeit zum Messzeitpunkt  $t_0$  (Baseline) im zeitlichen Verlauf bei Applikation von 4% Salbeiextrakt im hydrophilen Prüfpräparat; \* = Statistisch signifikanter Unterschied der Messwerte zum Zeitpunkt  $x$  zur Baseline ( $t_0$ ),  $p \leq 0,05$

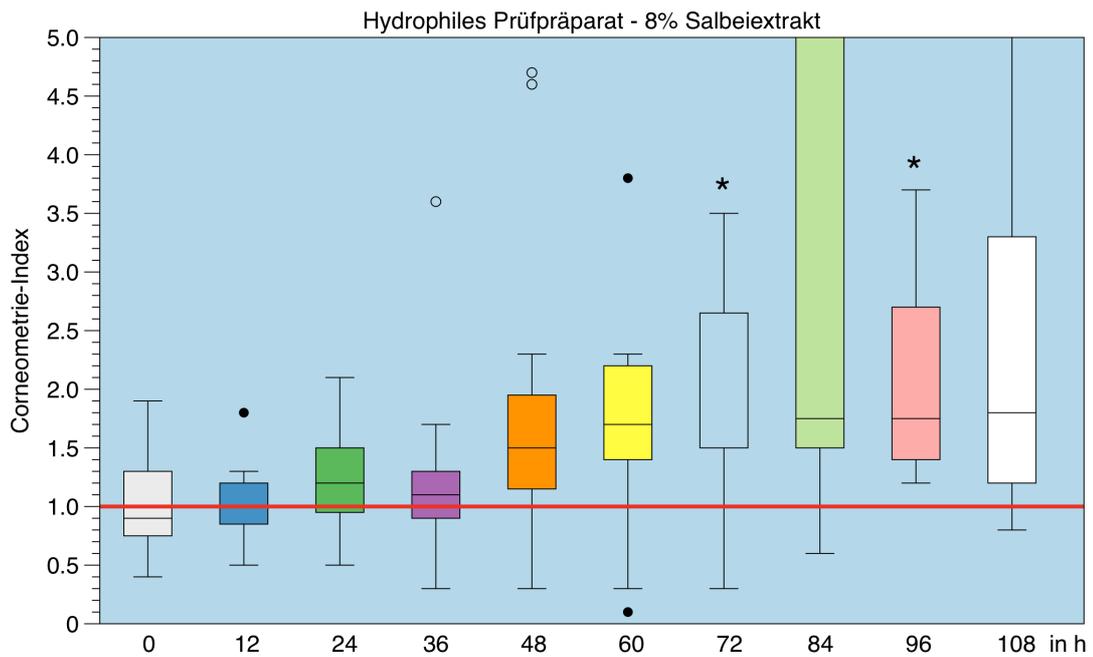


Abb. 18: Darstellung des Corneometrie-Index in Abhängigkeit zum Messzeitpunkt  $t_0$  (Baseline) im zeitlichen Verlauf bei Applikation von 8% Salbeiextrakt im hydrophilen Prüfpräparat; \* = Statistisch signifikanter Unterschied der Messwerte zum Zeitpunkt  $x$  zur Baseline ( $t_0$ ),  $p \leq 0,05$

#### 4.3.3 Colorimetrie

Die hydrophilen Prüfpräparate beeinflussten die Rötung der Haut im Vergleich zum Ausgangswert weder im zeitlichen Verlauf noch durch eine höhere Konzentration des Salbeiextrakts signifikant (Abb. 19, 20, 21). Eine breite Streuung der Messwerte der Colorimetrie war sowohl unter Anwendung des 1%-igen, des 4%-igen und des 8%-igen hydrophilen Prüfpräparats zu verzeichnen. Die Werte des Colorimetrie-Index wurden nach Applikation der hydrophilen Prüfpräparate nicht stärker gesenkt, als nach Applikation des hydrophilen Vehikels (Abb. 35).

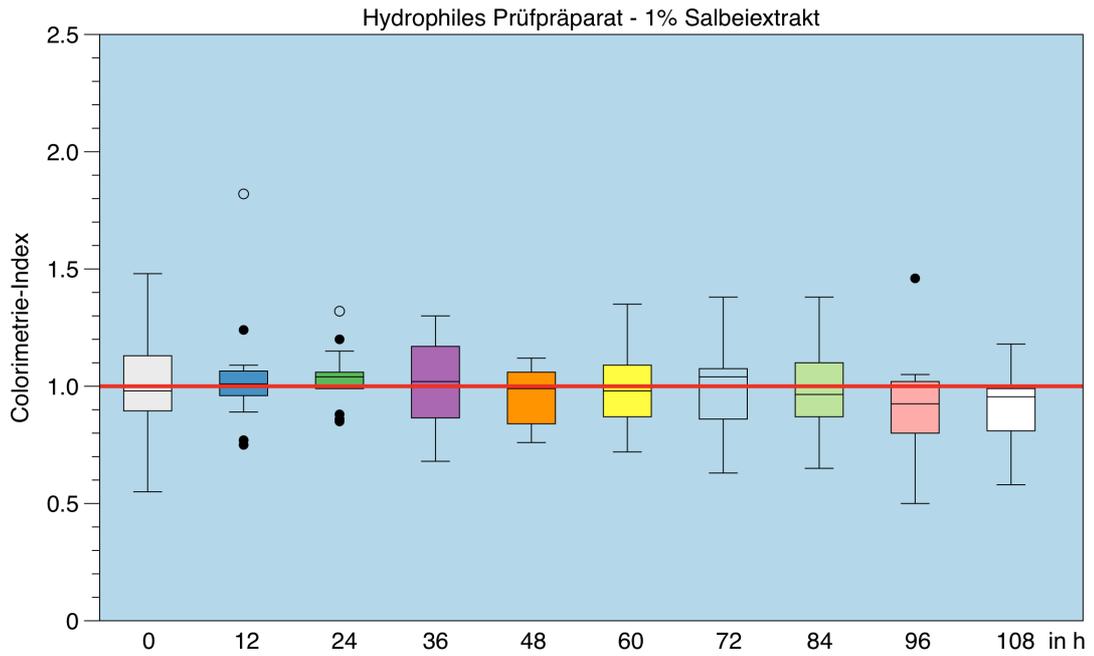


Abb. 19: Darstellung des Colorimetrie-Index in Abhängigkeit zum Messzeitpunkt t<sub>0</sub> (Baseline) im zeitlichen Verlauf bei Applikation von 1% Salbeiextrakt im hydrophilen Prüfpräparat; \* = Statistisch signifikanter Unterschied der Messwerte zum Zeitpunkt x zur Baseline (t<sub>0</sub>),  $p \leq 0,05$

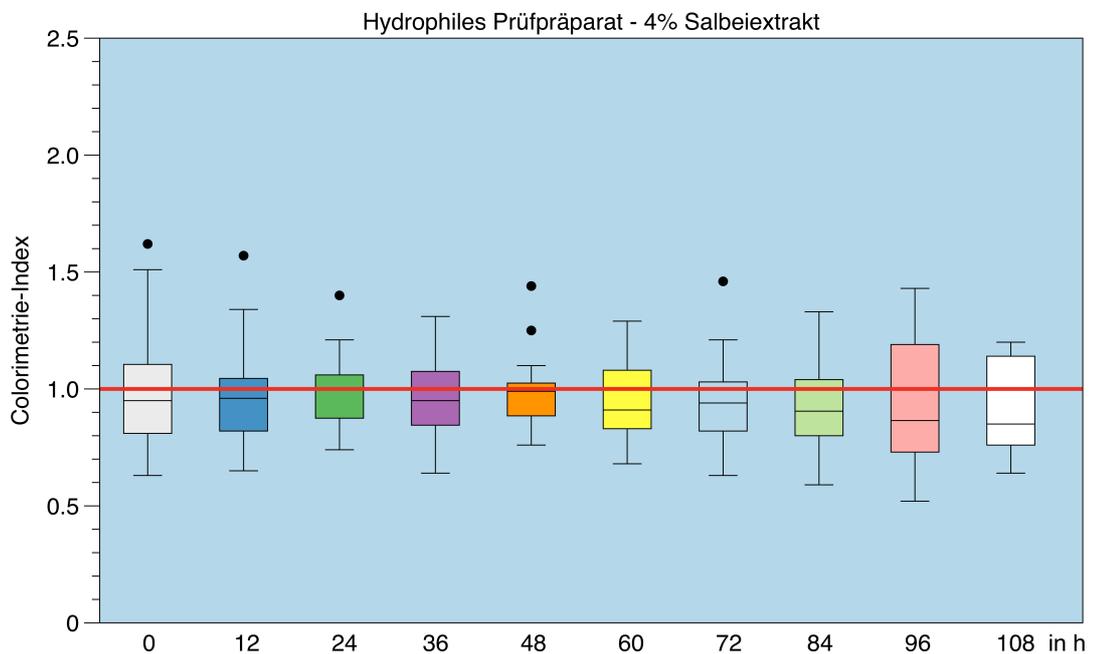


Abb. 20: Darstellung des Colorimetrie-Index in Abhängigkeit zum Messzeitpunkt t<sub>0</sub> (Baseline) im zeitlichen Verlauf bei Applikation von 4% Salbeiextrakt im hydrophilen Prüfpräparat; \* = Statistisch signifikanter Unterschied der Messwerte zum Zeitpunkt x zur Baseline (t<sub>0</sub>),  $p \leq 0,05$

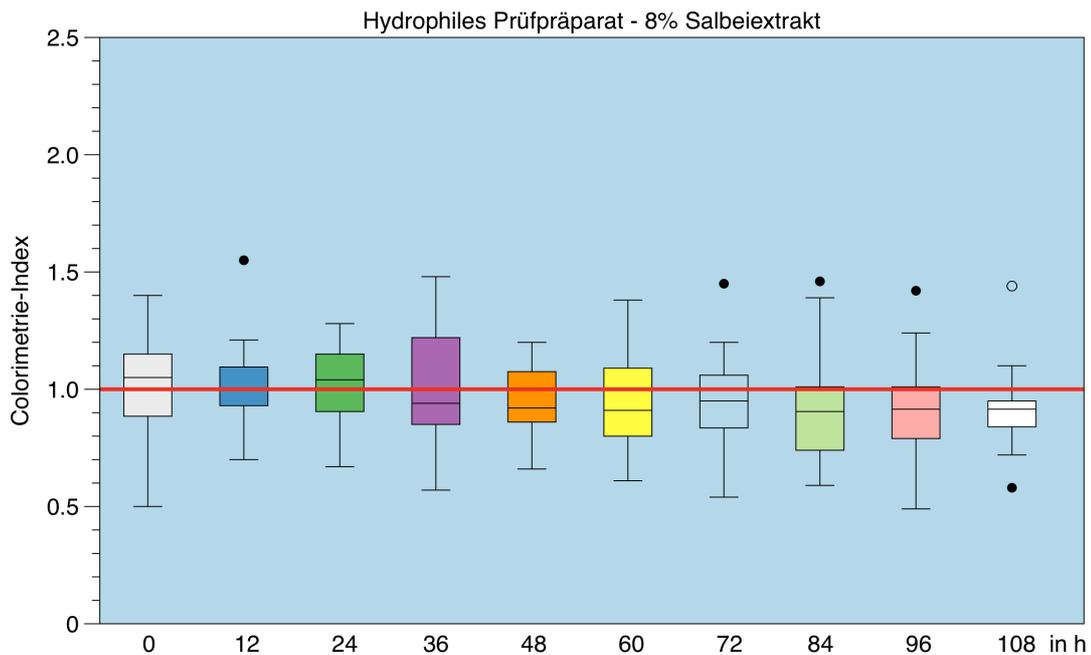


Abb. 21: Darstellung de Colorimetrie-Index in Abhängigkeit zum Messzeitpunkt t0 (Baseline) im zeitlichen Verlauf bei Applikation von 8% Salbeiextrakt im hydrophilen Prüfpräparat; \* = Statistisch signifikanter Unterschied der Messwerte zum Zeitpunkt x zur Baseline (t0),  $p \leq 0,05$

#### 4.4 Wirkung der lipophilen Prüfpräparate auf die Irritation und die Barrierefunktion der Haut

Im Folgenden wird beurteilt, inwiefern die lipophilen Prüfpräparate den transepidermalen Wasserverlust, den Feuchtigkeitsgehalt der Hornschicht und die Rötung der Haut im Studienverlauf beeinflussten. Die durch SLS geschädigten Hautareale wurden hierfür mit den lipophilen Prüfpräparaten mit 3%-iger, 12% -iger und 25%-iger Salbeikonzentration behandelt. Die ermittelten Messwerte wurden jeweils mit den Messwerten der geschädigten aber unbehandelten Hautareale ins Verhältnis gesetzt. Die im Studienverlauf erhobenen Index-Werte werden im Folgenden mit dem Index-Wert zum Messzeitpunkt t0 (Baseline) verglichen. Dadurch ist ein Rückschluss auf den Einfluss der Prüfpräparate im zeitlichen Verlauf möglich.

##### 4.4.1 Tewametrie

Der transepidermale Wasserverlust war unter Behandlung mit den lipophilen Prüfpräparaten im Vergleich zum Ausgangswert im Mittel frühestens ab 12 Stunden nach Studienbeginn geringer als zum Messzeitpunkt t0 (Abb. 22, 23, 24).

Das 3% -ige lipophile Prüfpräparat bewirkte ab 48 Stunden nach Studienbeginn bis Studienende eine nahezu konstante Reduktion des mittleren Messwertes um 20% im Vergleich zum Messzeitpunkt t0 (Abb. 22).

Das 12% -ige lipophile Prüfpräparat bewirkte ab 72 Stunden nach Studienbeginn bis Studienende eine konstante Reduktion des mittleren Messwertes um 10-20% im Vergleich zum Messzeitpunkt t0 (Abb. 23).

Das 25% -ige lipophile Prüfpräparat bewirkte ab 12 Stunden nach Studienbeginn bis Studienende eine konstante Reduktion des mittleren Messwertes um 10% bis nahezu 30% im Vergleich zum Messzeitpunkt t0 (Abb. 24).

Insbesondere innerhalb der ersten 36 Stunden nach Studienbeginn war bei allen lipophilen Prüfpräparaten eine breite Streuung der Messwerte zu verzeichnen (Abb. 22, 23, 24). Eine signifikante Reduktion des transepidermalen Wasserverlustes im Vergleich zum Messzeitpunkt t0, wurde durch keines der verwendeten lipophilen Prüfpräparate erreicht (Abb. 22, 23, 24). Die lipophilen Prüfpräparate reduzierten den transepidermalen Wasserverlust im Studienverlauf nicht wesentlich stärker als die lipophilen Vehikel (Abb. 32).

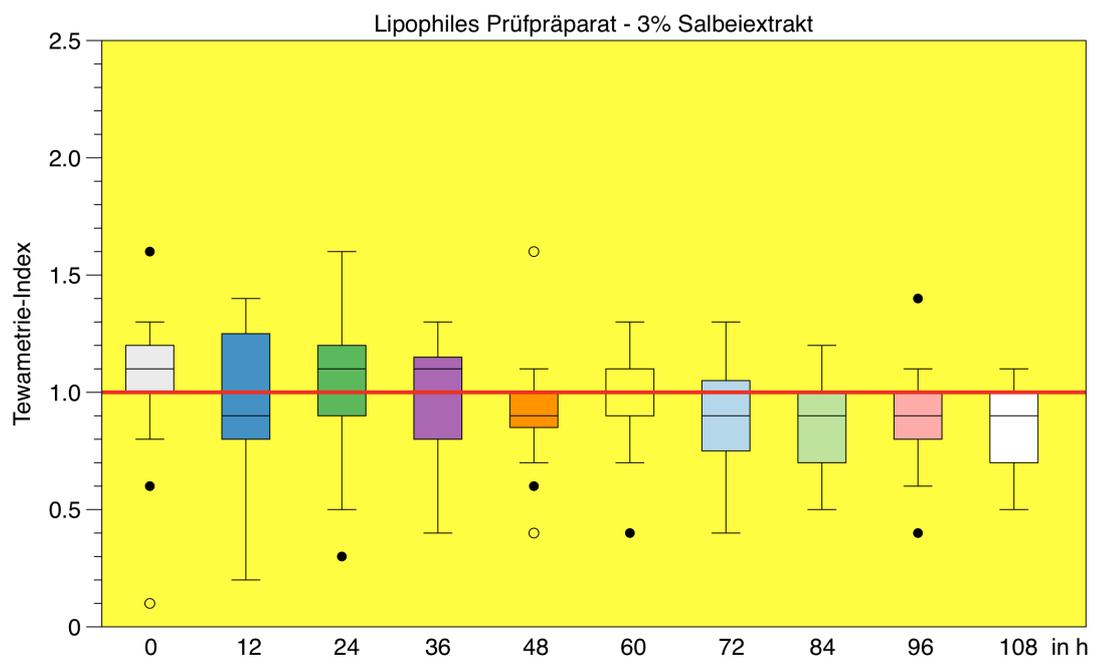


Abb. 22: Darstellung des Tewametrie-Index in Abhängigkeit zum Messzeitpunkt t0 (Baseline) im zeitlichen Verlauf bei Applikation von 3% Salbeiextrakt im lipophilen Prüfpräparat; \* = Statistisch signifikanter Unterschied der Messwerte zum Zeitpunkt x zur Baseline (t0),  $p \leq 0,05$

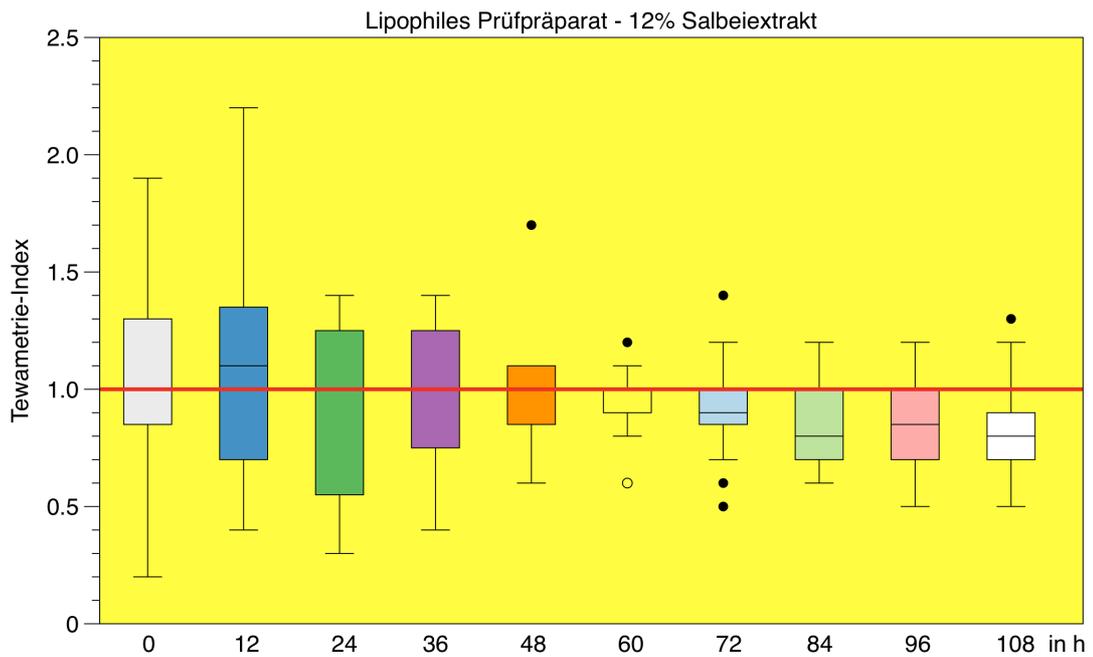


Abb. 23: Darstellung des Tewametrie-Index in Abhängigkeit zum Messzeitpunkt  $t_0$  (Baseline) im zeitlichen Verlauf bei Applikation von 12% Salbeiextrakt im lipophilen Prüfpräparat; \* = Statistisch signifikanter Unterschied der Messwerte zum Zeitpunkt  $x$  zur Baseline ( $t_0$ ),  $p \leq 0,05$

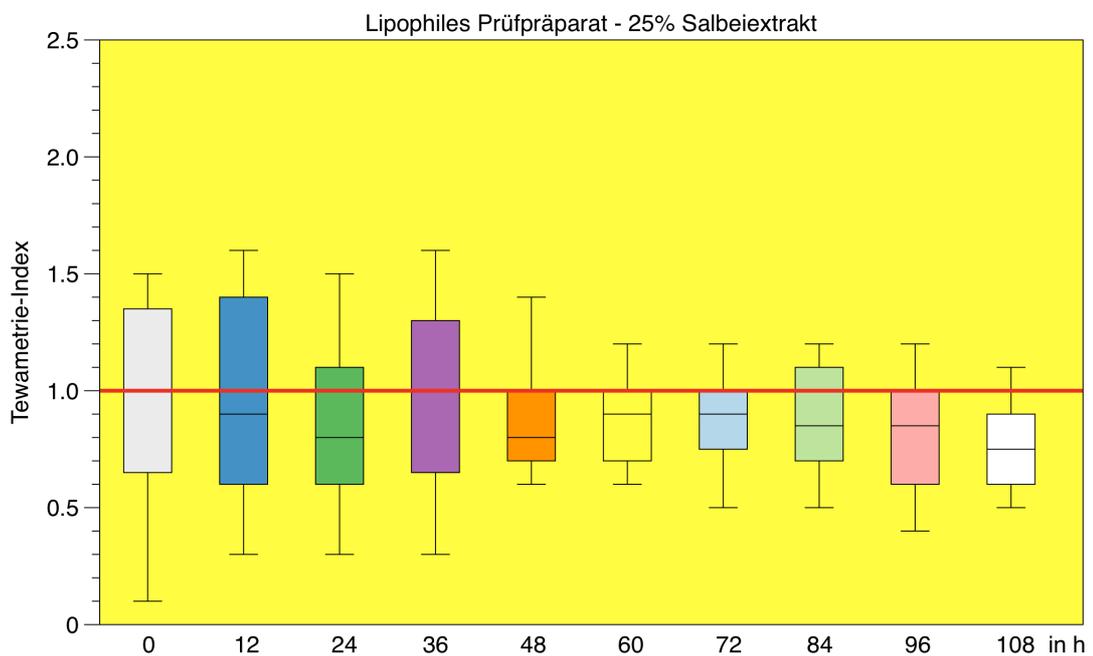


Abb. 24: Darstellung des Tewametrie-Index in Abhängigkeit zum Messzeitpunkt  $t_0$  (Baseline) im zeitlichen Verlauf bei Applikation von 25% Salbeiextrakt im lipophilen Prüfpräparat; \* = Statistisch signifikanter Unterschied der Messwerte zum Zeitpunkt  $x$  zur Baseline ( $t_0$ ),  $p \leq 0,05$

#### 4.4.2 Corneometrie

Die Feuchtigkeit der Hornschicht wurde durch die lipophilen Prüfpräparate weder im zeitlichen Verlauf noch in Abhängigkeit von der Salbeikonzentration im Vergleich zum Messzeitpunkt  $t_0$  signifikant gesteigert (Abb. 25, 26, 27). Die Hornschichthydratation der behandelten Hautareale war jedoch zu fast allen Messzeitpunkten beim Großteil der Probanden höher im Vergleich zum Ausgangswert. Die Messwerte der lipophilen Prüfpräparate zeigten untereinander keine wesentlichen Unterschiede. Allerdings war die mittlere Hornschichthydratation unter Verwendung aller lipophilen Prüfpräparate im Studienverlauf fast durchgehend größer als unter Verwendung der lipophilen Vehikel (Abb. 34).

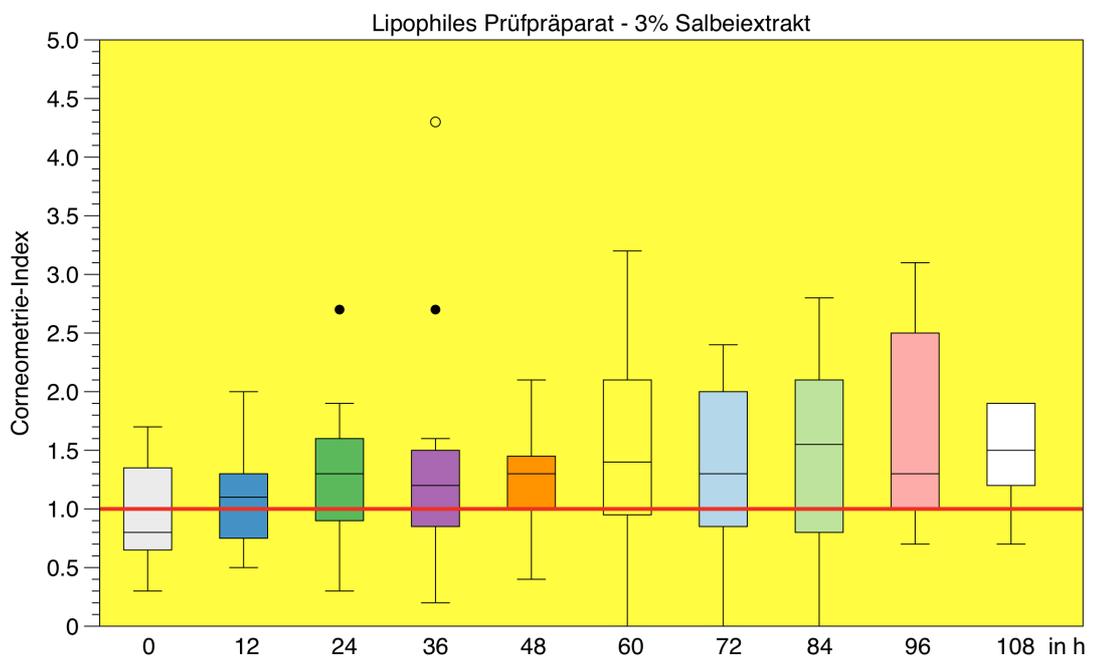


Abb. 25: Darstellung des Corneometrie-Index in Abhängigkeit zum Messzeitpunkt  $t_0$  (Baseline) im zeitlichen Verlauf bei Applikation von 3% Salbeiextrakt im lipophilen Prüfpräparat; \* = Statistisch signifikanter Unterschied der Messwerte zum Zeitpunkt  $x$  zur Baseline ( $t_0$ ),  $p \leq 0,05$

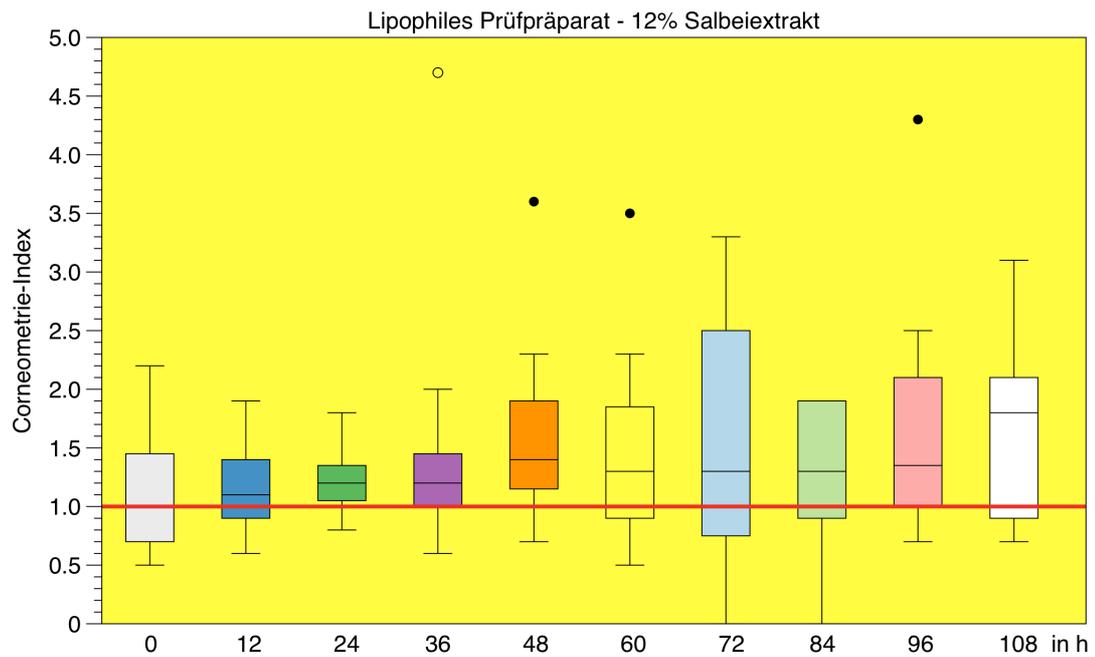


Abb. 26: Darstellung des Corneometrie-Index in Abhängigkeit zum Messzeitpunkt  $t_0$  (Baseline) im zeitlichen Verlauf bei Applikation von 12% Salbeiextrakt im lipophilen Prüfpräparat; \* = Statistisch signifikanter Unterschied der Messwerte zum Zeitpunkt  $x$  zur Baseline ( $t_0$ ),  $p \leq 0,05$

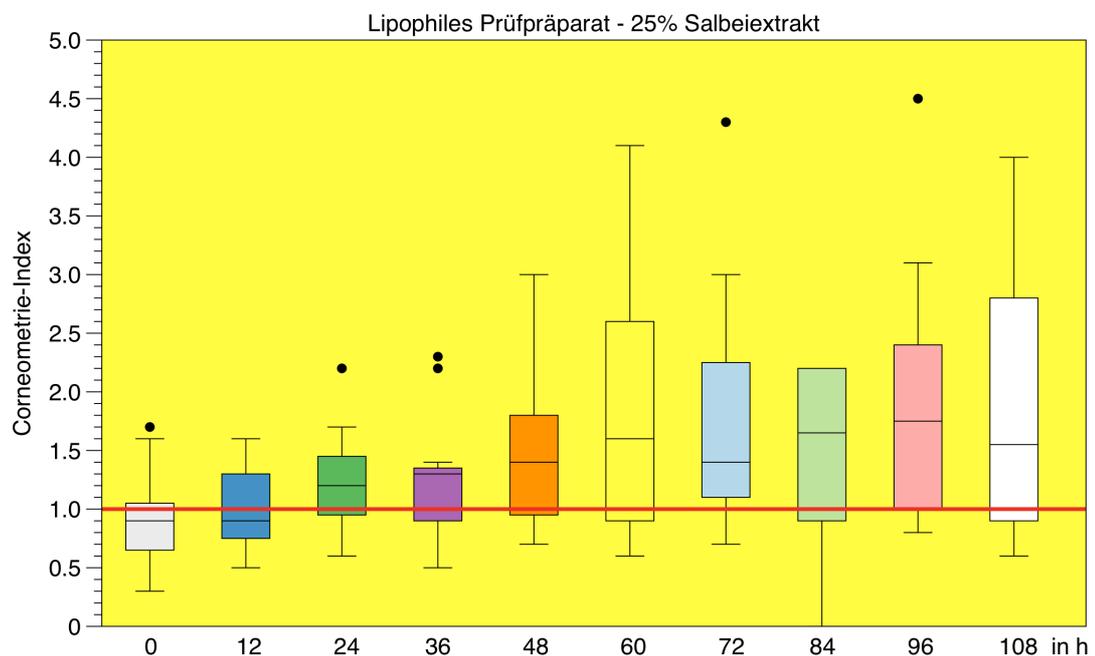


Abb. 27: Darstellung des Corneometrie-Index in Abhängigkeit zum Messzeitpunkt  $t_0$  (Baseline) im zeitlichen Verlauf bei Applikation von 25% Salbeiextrakt im lipophilen Prüfpräparat; \* = Statistisch signifikanter Unterschied der Messwerte zum Zeitpunkt  $x$  zur Baseline ( $t_0$ ),  $p \leq 0,05$

#### 4.4.3 Colorimetrie

Eine signifikante Beeinflussung der Hautrötung konnte für die lipophilen Prüfpräparate zu keinem Zeitpunkt der Studie unabhängig von der Konzentration des Salbeiextrakts nachgewiesen werden. Die mittleren Messwerte im Studienverlauf unterschieden sich nur geringfügig vom Ausgangswert (Abb. 28, 29, 30).

Unter Verwendung des lipophilen 3% -igen Prüfpräparates war der mittlere Messwert ab 60 Stunden nach Studienbeginn bis Studienende konstant geringer als die Baseline (Abb. 28). Der Unterschied zur Baseline betrug ca. 10%.

Unter Verwendung des lipophilen 12% -igen Prüfpräparates war der mittlere Messwert ab 12 Stunden nach Studienbeginn bis Studienende konstant geringer als zum Messzeitpunkt t0 (Abb. 29). Der Unterschied betrug ca. 10 %.

Unter Verwendung des lipophilen 25% -igen Prüfpräparates unterschied sich der mittlere Messwert im Studienverlauf nicht wesentlich vom Ausgangswert. (Abb. 30).

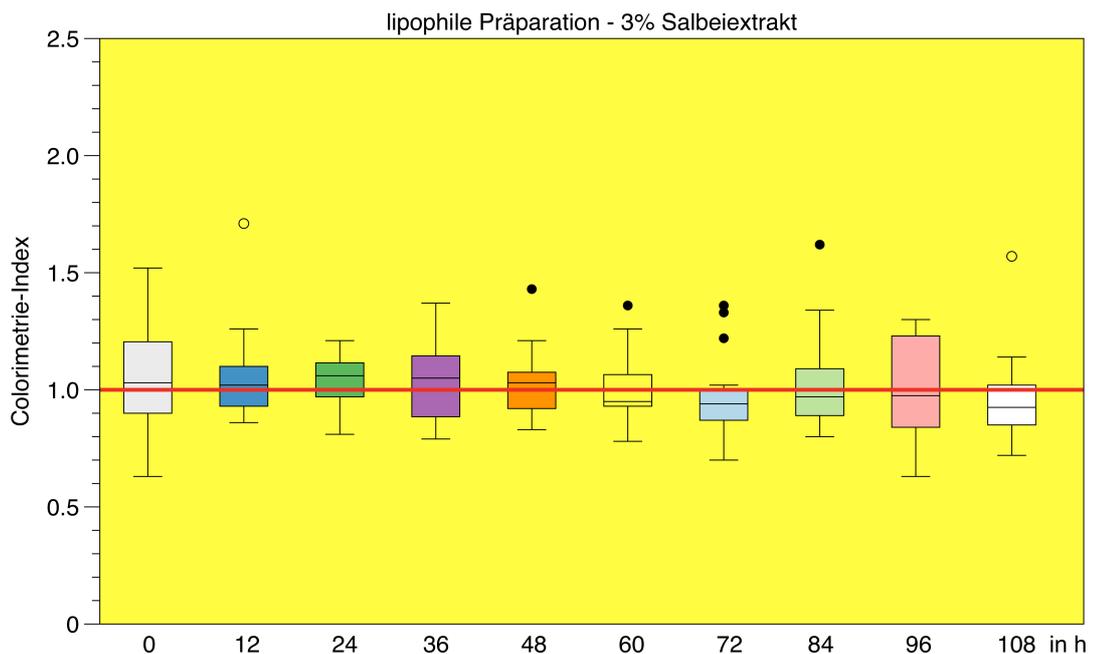


Abb. 28: Darstellung des Colorimetrie-Index in Abhängigkeit zum Messzeitpunkt t0 (Baseline) im zeitlichen Verlauf bei Applikation von 3% Salbeiextrakt im lipophilen Prüfpräparat; \* = Statistisch signifikanter Unterschied der Messwerte zum Zeitpunkt x zur Baseline (t0),  $p \leq 0,05$

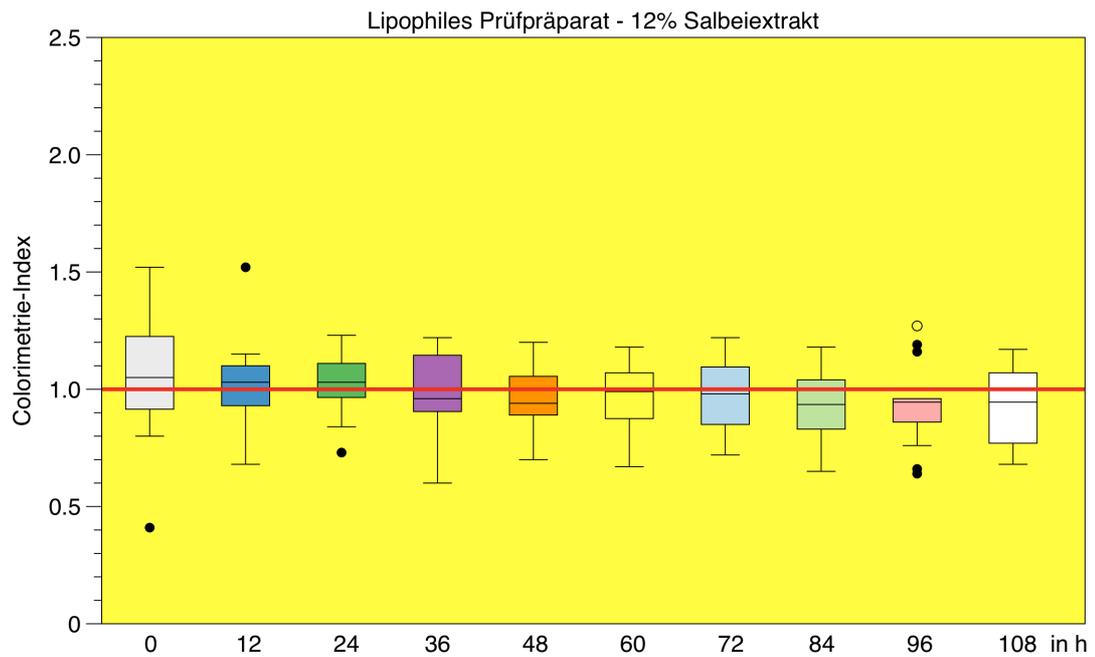


Abb. 29: Darstellung des Colorimetrie-Index in Abhängigkeit zum Messzeitpunkt  $t_0$  (Baseline) im zeitlichen Verlauf bei Applikation von 12% Salbeiextrakt im lipophilen Prüfpräparat; \* = Statistisch signifikanter Unterschied der Messwerte zum Zeitpunkt  $x$  zur Baseline ( $t_0$ ),  $p \leq 0,05$

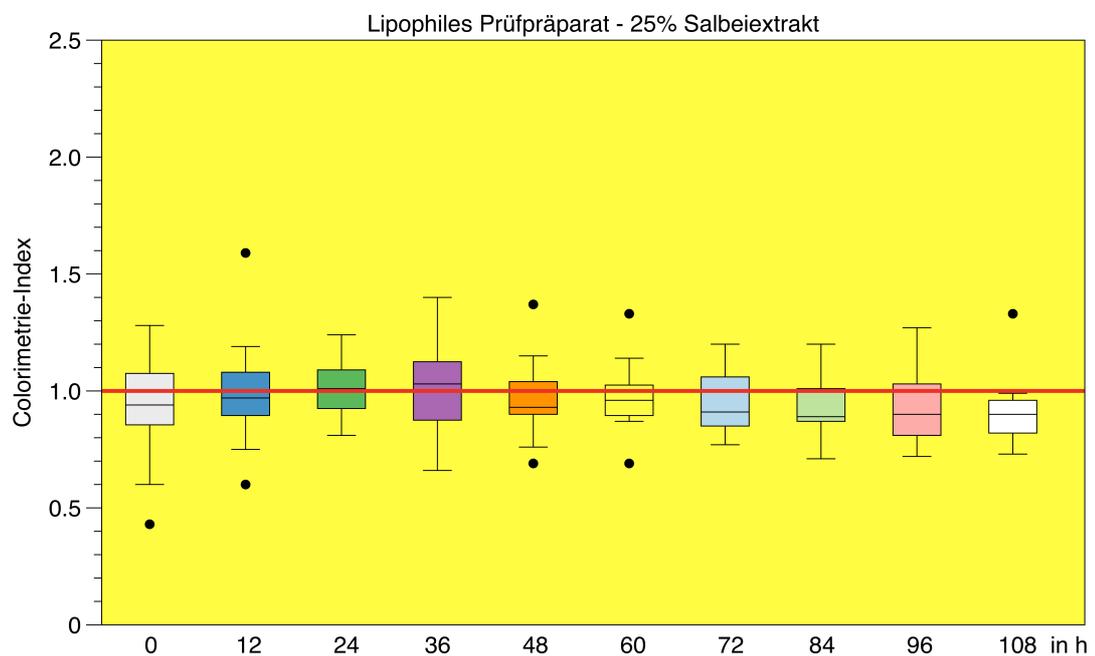


Abb. 30: Darstellung des Colorimetrie-Index in Abhängigkeit zum Messzeitpunkt  $t_0$  (Baseline) im zeitlichen Verlauf bei Applikation von 25% Salbeiextrakt im lipophilen Prüfpräparat; \* = Statistisch signifikanter Unterschied der Messwerte zum Zeitpunkt  $x$  zur Baseline ( $t_0$ ),  $p \leq 0,05$

#### 4.5 Wirkung der Vehikel auf die Barrierefunktion und die Irritation der Haut

Zur Ermittlung, ob eine Veränderung der Messwerte auf das Prüfpräparat oder das entsprechende Vehikel zurückzuführen ist, wurde diese Studie vehikelkontrolliert durchgeführt. Je ein durch SLS (0,5%) geschädigtes Hautareal jedes Probanden wurde mit einer hydrophilen und einer lipophilen Cremegrundlage ohne Salbeiextrakt behandelt. Der jeweils ermittelte Messwert wurde mit dem Messwert des geschädigten aber unbehandelten Hautareals ins Verhältnis gesetzt. Als Referenz dient im Folgenden der Index-Wert zum Messzeitpunkt t0 (Baseline). Dadurch ist ein Rückschluss auf den Einfluss der Vehikel im zeitlichen Verlauf möglich.

##### 4.5.1 Tewametrie

In den mit dem hydrophilen Präparat behandelten Arealen waren die mittleren Messwerte des transepidermalen Wasserverlustes ab 24 Stunden im zeitlichen Verlauf geringerer als zum Messzeitpunkt t0 (Abb. 31). Auffällig war die breite Streuung der Messwerte innerhalb der ersten 24 Stunden. Eine klare zeitliche Tendenz der Reduktion des Wasserverlustes war nicht zu erkennen. Der Wasserverlust in den behandelten Arealen war zu keinem Zeitpunkt der Messung signifikant geringer im Vergleich zum Messzeitpunkt t0.

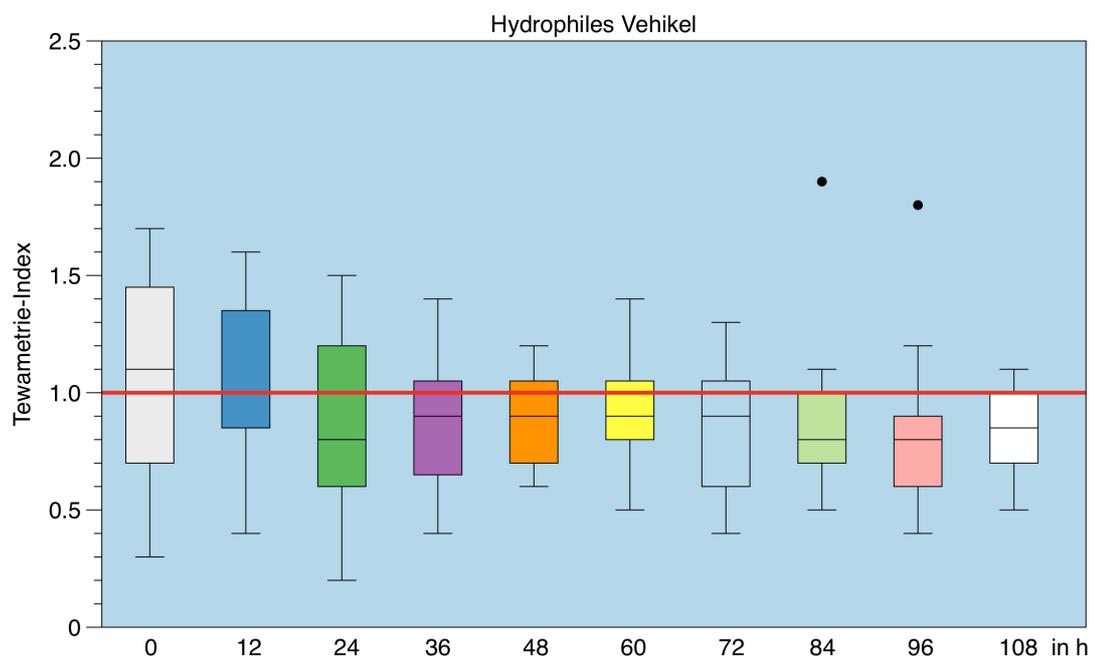


Abb. 31: Darstellung des Tewametrie-Index in Abhängigkeit zum Messzeitpunkt t0 (Baseline) im zeitlichen Verlauf bei Applikation des hydrophilen Vehikels; \* = Statistisch signifikanter Unterschied der Messwerte zum Zeitpunkt x zur Baseline (t0),  $p \leq 0,05$

Die Hautareale, die mit dem lipophilen Vehikel behandelt wurden, zeigten ebenfalls ab 24 Stunden nach Studienbeginn einen geringeren Wasserverlust im Vergleich zum Messzeitpunkt  $t_0$ . Die Messwerte streuten innerhalb der ersten 24 Stunden ähnlich breit, wie die des hydrophilen Vehikels. Ein signifikanter Unterschied zum Ausgangswert bestand zu keinem Messzeitpunkt (Abb. 32).

Ein wesentlicher Unterschied im Einfluss auf den transepidermalen Wasserverlauf zwischen den beiden verwendeten Vehikeln wurde im Studienverlauf nicht festgestellt (Abb. 31, 32).

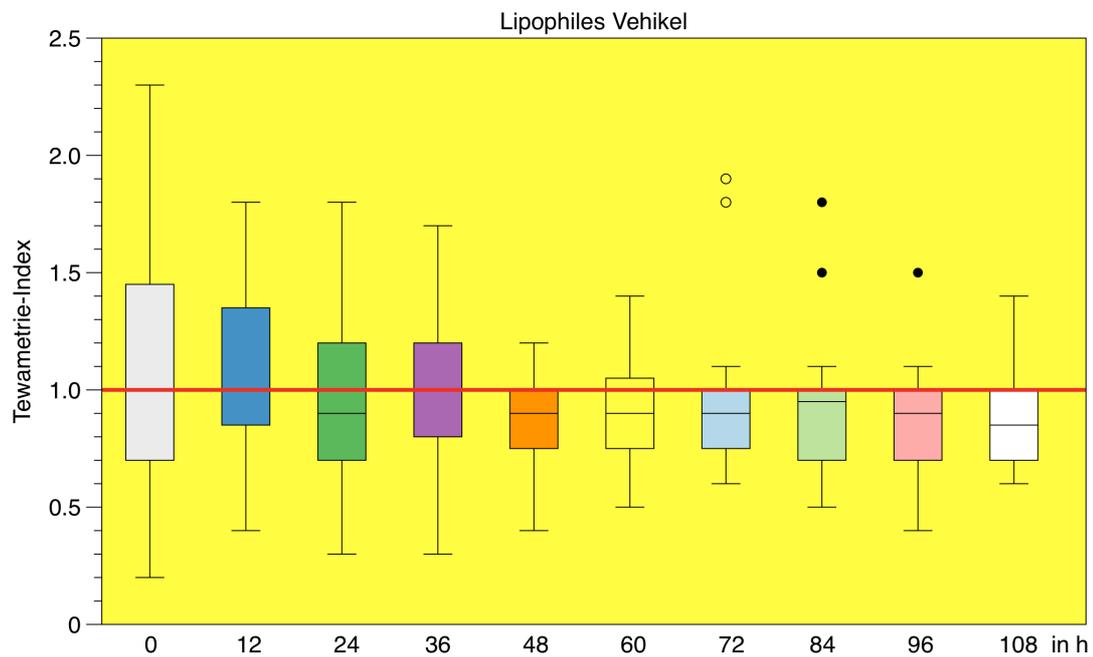


Abb. 32: Darstellung des Tewametrie-Index in Abhängigkeit zum Messzeitpunkt  $t_0$  (Baseline) im zeitlichen Verlauf bei Applikation des lipophilen Vehikels; \* = Statistisch signifikanter Unterschied der Messwerte zum Zeitpunkt  $x$  zur Baseline ( $t_0$ ),  $p \leq 0,05$

#### 4.5.2 Corneometrie

Der Wassergehalt der Hornschicht stieg unter Behandlung mit dem hydrophilen Vehikel bis Studienende stetig an. Nach 24 Stunden war der mittlere Messwert bis Studienende höher als zum Messzeitpunkt  $t_0$ . Nach 84 Stunden war der Feuchtigkeitsgehalt der Hornschicht unter Behandlung mit dem hydrophilen Vehikel bis Studienende signifikant höher als zum Studienbeginn. Die Steigerung des mittleren Messwertes der Hornschichthydratation im Vergleich zur Baseline betrug ab diesem Zeitpunkt mehr als 100% (Abb. 33).

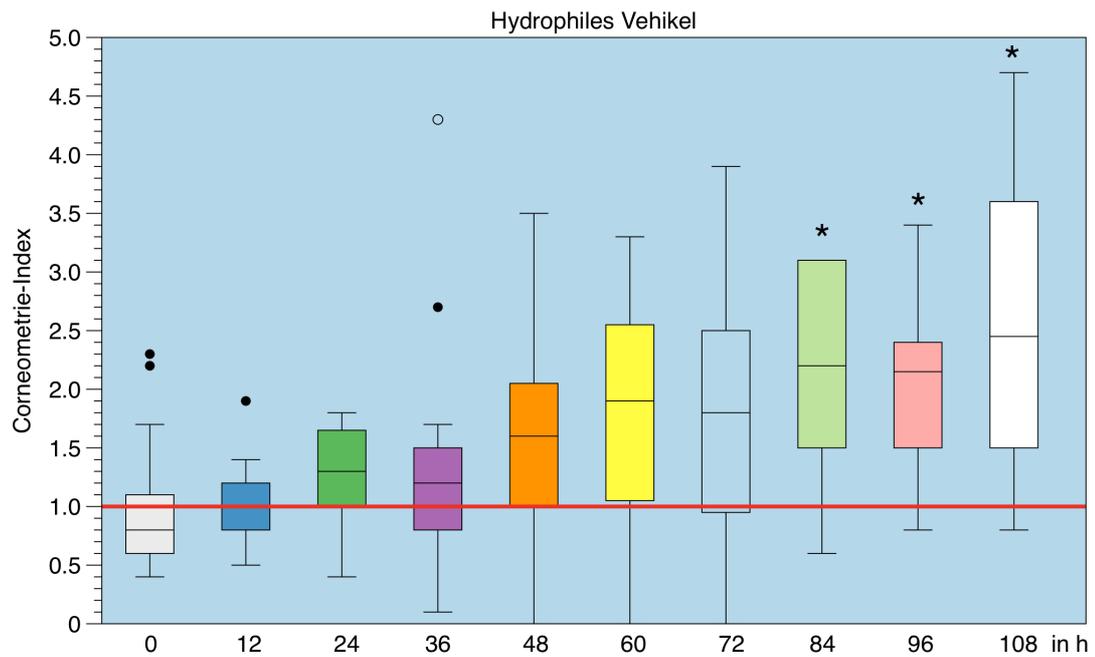


Abb. 33: Darstellung des Corneometrie-Index in Abhängigkeit zum Messzeitpunkt  $t_0$  (Baseline) im zeitlichen Verlauf bei Applikation des hydrophilen Vehikels \* = Statistisch signifikanter Unterschied der Messwerte zum Zeitpunkt x zur Baseline ( $t_0$ ),  $p \leq 0,05$

Unter Anwendung des lipophilen Vehikels waren die mittleren Messwerte im zeitlichen Verlauf nicht konstant höher als zum Messzeitpunkt  $t_0$ . Eine signifikant höhere Hydratation der Hornschicht durch Verwendung des lipophilen Vehikels war zu keinem Messzeitpunkt im Studienverlauf nachweisbar (Abb.34).

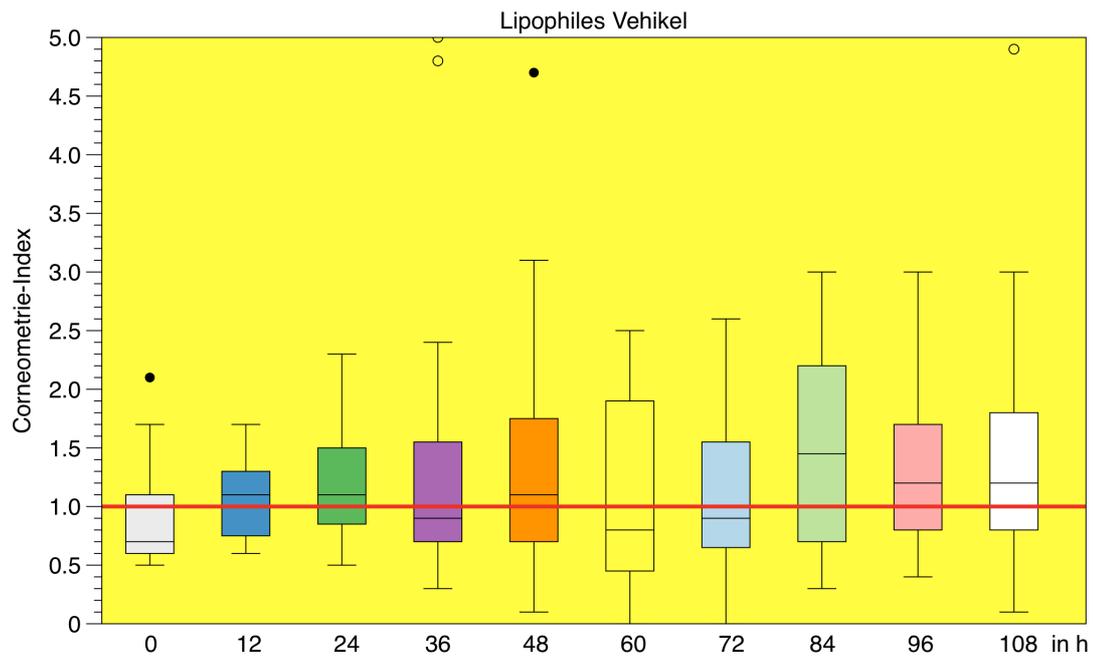


Abb. 34: Darstellung des Corneometrie-Index in Abhängigkeit zum Messzeitpunkt  $t_0$  (Baseline) im zeitlichen Verlauf bei Applikation des lipophilen Vehikels; \* = Statistisch signifikanter Unterschied der Messwerte zum Zeitpunkt  $x$  zur Baseline ( $t_0$ ),  $p \leq 0,05$

#### 4.5.3 Colorimetrie

Das hydrophile noch das lipophile Vehikel beeinflussten die Rötung der Haut im zeitlichen Verlauf nicht signifikant im Vergleich zum Messzeitpunkt  $t_0$  (Abb. 35, 36). Unter Anwendung des hydrophilen Vehikels waren die mittleren Messwerte der Hautrötung ab 60 Stunden nach Studienbeginn geringer als zum Beginn der Studie. Zu jedem Messzeitpunkt wurden unter Anwendung des hydrophilen Vehikels Ausreißer verzeichnet und die ermittelten Messwerte streuten teilweise breit (Abb. 35).

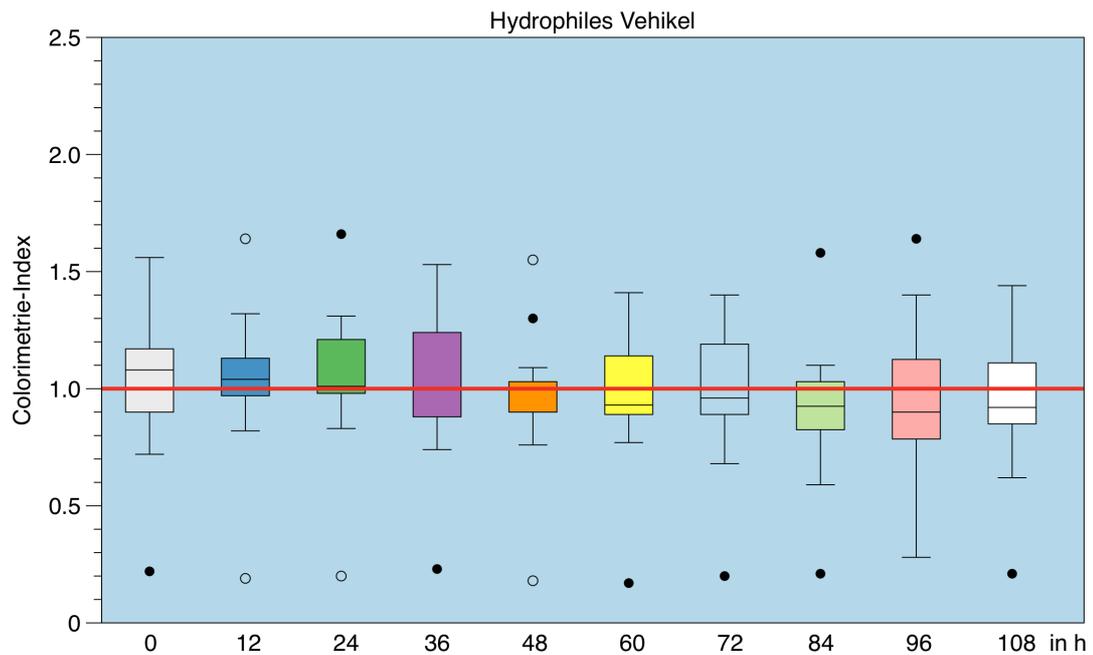


Abb. 35: Darstellung des Colorimetrie-Index in Abhängigkeit zum Messzeitpunkt  $t_0$  (Baseline) im zeitlichen Verlauf bei Applikation des hydrophilen Vehikels; \* = Statistisch signifikanter Unterschied der Messwerte zum Zeitpunkt  $x$  zur Baseline ( $t_0$ ),  $p \leq 0,05$

Durch Applikation des lipophilen Vehikels wurden nach 36 und nach 48 Stunden sogar höhere mittlere Messwerte der Hautrötung im Vergleich zum Messzeitpunkt  $t_0$  festgestellt (Abb. 36). Nach 84 Stunden waren die mittleren Messwerte der Colorimetrie unter Anwendung des lipophilen Vehikels bis Studienende geringer als die Baseline. Die mittleren Messwerte der Colorimetrie unterschieden sich zwischen dem hydrophilen und dem lipophilen Vehikel nur geringfügig (Abb. 35, 36).

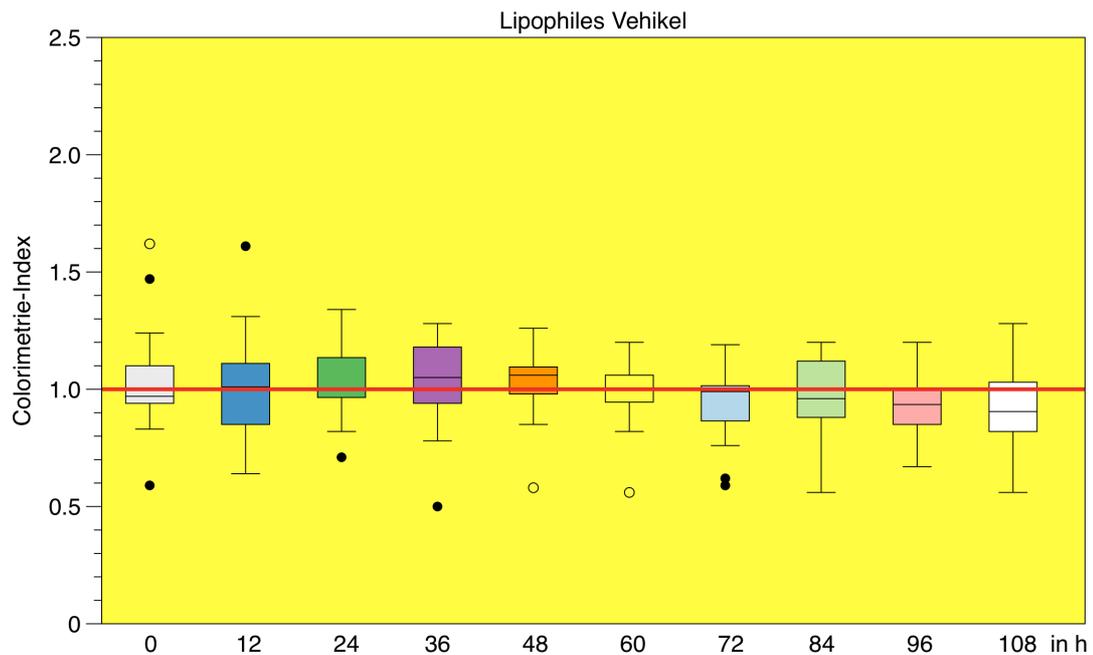


Abb. 36: Darstellung des Colorimetrie-Index in Abhängigkeit zum Messzeitpunkt  $t_0$  (Baseline) im zeitlichen Verlauf bei Applikation des lipophilen Vehikels; \* = Statistisch signifikanter Unterschied der Messwerte zum Zeitpunkt  $x$  zur Baseline ( $t_0$ ),  $p \leq 0,05$

#### 4.6 Unerwünschte Ereignisse

Während der gesamten Studie traten zu keinem Zeitpunkt unerwünschte Ereignisse, wie zum Beispiel allergische Reaktionen oder Irritationen der behandelten Hautareale durch die Applikation der Prüfpräparate oder der Vehikel auf. Die SLS Patches riefen bei wenigen Probanden eine stärkere Hautreaktion hervor als bei den restlichen Studienteilnehmern (Abb. 37). Bei diesen Probanden bildeten sich innerhalb der ersten 24 Stunden Blasen an mindestens einem der mit 0,5% SLS behandelten Hautareale. Die Einteilung des Schweregrades der Hautreaktion erfolgte anhand des „simple scoring system“ der „ESCD guideline on clinical scoring of acute SLS irritant reactions“ (Tab. 4) (Tupker et al., 1997). Die Reaktion auf die Behandlung mit SLS entsprach dabei einem Scorewert von 3. Das Abdeckpflaster rief bei beiden Probanden ebenfalls eine Rötung der Haut hervor. Die interindividuell verschieden stark ausgeprägte Penetration von SLS in die Haut ist bekannt und erklärt auch in dieser Studie die unterschiedlich starke Irritation der Haut (Tupker et al., 1997).



Abb. 37: Beispiel einer starken Reaktion auf die SLS Patches und sichtbare Irritation durch das Pflaster am rechten Handgelenk

Tab. 4: ESCD Simple Scoring System für die akute Reaktion auf SLS Irritation (Tupker et al., 1997)

Score	Ausprägung	Beschreibung
0	Negativ	Keine Reaktion
0,5	Zweifelhaft	Sehr schwaches Erythem oder minimale Schuppung
1	Schwach	Schwache Ausprägung von: Erythem, Ödem, Schuppung und/oder Rauigkeit
2	Mäßig	Mäßige Ausprägung von: Erythem, Ödem, Schuppung und/oder Rauigkeit  <b>Oder</b> Geringe Ausprägung von: Erosionen, Vesikeln, Krustenbildung und/oder Fissuren
3	Stark	Deutliche Ausprägung von: Erythem, Ödem, Schuppung, Rauigkeit, Erosionen, Vesikeln, Bullae, Krustenbildung und/oder Fissuren
4	Sehr stark	Wie 3, mit nekrotischen Anteilen

## 5 Diskussion

### 5.1 Die Studienpopulation

In der vorliegenden Studie wurde der Einfluss von Salbeiextrakt in hydrophiler und lipophiler halbfester Formulierung auf die Barriererestitution und die Irritation der Haut im zeitlichen Verlauf untersucht. Dazu wurden 15 gesunde Probanden ohne bekannte Hauterkrankungen und mit intakter Hautbarriere in die Studie eingeschlossen. Die Schädigung der Hautbarriere der Probanden erfolgte mithilfe von SLS (0,5%) über 24 Stunden. Das Ziel dieser Schädigung war eine homogene Studienpopulation in Bezug auf die Funktionsbeeinträchtigung der Hautbarriere.

Die erhobenen Messwerte nach Behandlung der Haut mit SLS (0,5%) weisen auf eine Inhomogenität der Studienpopulation bezüglich der Schädigung der Hautbarriere hin. Die Verteilung der jeweiligen Messwerte der Tewametrie, der Corneometrie und der Colorimetrie in den Box-Plots verdeutlicht, dass die Schädigung der Hautbarriere durch SLS bei den Probanden unterschiedlich stark ausgeprägt war. Der Interquartilsabstand war bei den meisten Messungen groß und spiegelt die breite Streuung der erhobenen Messdaten wider. Auch das 5. und 95. Perzentil wiesen oft große Abstände auf. Die Position des Median innerhalb der Box zeigte häufig eine links- oder rechtsschiefe Verteilung der Messwerte auf. Zur Bestimmung des Einflusses des jeweils verwendeten Präparates wird jeweils der Median eines Messzeitpunktes mit dem Median des Messzeitpunktes  $t_0$  verglichen. Da der Median robust ist gegen Ausreißer, kann dieser aufgrund der in dieser Studie breit gestreuten Messwerte als ein geeignetes Lagemaß verwendet werden. In Folgestudien kann eine größere Studienpopulation die Wahrscheinlichkeit der Normalverteilung der Daten und damit die Robustheit der statistischen Untersuchung erhöhen.

Trotz der interindividuell unterschiedlich ausgeprägten Reaktionen auf das SLS wurde bei allen Probanden ein Barrierschaden induziert. Der transepidermale Wasserverlust war in den ersten 36 Stunden bis auf das 7- bis 11-fache im Vergleich zur Baseline erhöht (Abb. 8). Der starke Wasserverlust in den ersten 24-36 Stunden ist auf den irritativ-toxischen Effekt des SLS auf die Haut zurückzuführen. Nach Abklingen der exsudativen Phase der entzündlichen Reaktion ab 36 Stunden nach Studienbeginn war der Feuchtigkeitsgehalt der Hornschicht bei allen Probanden geringer als der Baselinewert (Abb. 9). Die Rötung der Haut - ein Zeichen einer Hyperämie im Rahmen der toxisch-irritativen Entzündungsreaktion - war bei nahezu allen Probanden ab 12 Stunden nach Studienbeginn höher als die Baseline (Abb. 10). Der erhöhte Wasserverlust, die verminderte Hornschichthydratation und die Rötung der Haut sind als Zeichen trockener Haut infolge eines Barrierschadens zu werten. Es wurden also

geeignete Voraussetzungen geschaffen, um die Einflüsse der Prüfpräparate auf die definierten Zielparameter zu untersuchen.

## **5.2 Der Einfluss des Salbeiextrakts und der Vehikel auf die Barriererestitution und die Irritation der Haut**

Die Barriererestitution der Haut wird multifaktoriell beeinflusst. Die Wasserspeicherfähigkeit sowie die Wasserverdunstungsmenge bestimmen den Feuchtigkeitsgehalt der oberen Hautschicht. Im physiologischen Zustand beträgt der Feuchtigkeitsgehalt der Haut bis zu 30%. Es besteht ein enger Zusammenhang zwischen dem Feuchtigkeitsgehalt der Hornschicht und der Korneozytendifferenzierung sowie der Aktivität der Enzyme, die an der Ausbildung der intakten Hautbarriere beteiligt sind (Rawlings und Matts, 2005; Wickett und Visscher, 2006). Endogene und exogene Einflüsse können den Feuchtigkeitsgehalt der Hornschicht reduzieren. Dazu gehören zum Beispiel häufiger Kontakt mit Wasser, starke mechanische Beanspruchung der Haut oder die Reinigung der Haut mit tensidhaltigen Seifen. Eine Folge der Störung der Hautbarriere sind lokale Entzündungsprozesse, die mit der Entstehung radikaler Sauerstoffspezies einhergehen (Bickers und Athar, 2006) und so die Bildung der physiologischen Hautbarriere verhindern oder verzögern können. Die Hypothese der Arbeit ist, dass der Salbeiextrakt aufgrund seiner bekannten antioxidativen (Cuvelier et al., 1996; Miura et al., 2002) und antiinflammatorischen (Jang et al., 2011) Eigenschaften die lokale Entzündung reduziert und dadurch Voraussetzungen für die Ausbildung einer intakten Hautbarriere schafft. Die tatsächliche Wirksamkeit der Wirkstoffe in halbfesten Formulierungen auf die gestörte Hautbarriere ist vor allem abhängig von den physikalisch-chemischen Eigenschaften des Salbeiextrakts, von der Zusammensetzung des Vehikels und dem Zustand der Hautbarriere (Daniels und Knie, 2007; Moser et al., 2001).

### **5.2.1 Der Einfluss des Salbeiextrakts und der Vehikel auf den transepidermalen Wasserverlust**

Eine weitere Messgröße, die Rückschlüsse auf die Barriere- und Reservoirfunktion des SC zulässt, ist der transepidermale Wasserverlust. Die Messung erfolgte mithilfe des Vapometers. Eine signifikante Steigerung des TEWL wurde in der vorliegenden Studie weder durch Anwendung der hydrophilen salbeihaltigen Prüfpräparate noch durch Anwendung der lipophilen salbeihaltigen Prüfpräparate erreicht.

Ein direkter Vergleich der Messergebnisse des transepidermalen Wasserverlustes mit anderen Studien ist nicht möglich, da bisher keine vergleichbaren Studien zum Einfluss von wässrig extrahiertem Salbeiextrakt auf die Barriererestitution der menschlichen Haut vorliegen. Allerdings wurden Untersuchungen zum Effekt von Wirkstoffen, die ebenfalls im echten Salbei enthalten sind, auf die menschliche Haut *in vivo* durchgeführt. Anhand einer vehikelkontrollierten Studie wurde der Effekt von Rosmarinsäure auf die Barriererestitution

bei atopischer Dermatitis aufgezeigt (Lee et al., 2008). Als Prüfpräparat diente eine hydrophile Creme mit Rosmarinsäure (0,3%). Die Creme wurde zweimal täglich auf die betroffenen Hautareale aufgetragen. Der Hautzustand wurde zu Beginn der Studie sowie nach vier und acht Wochen kontrolliert. Die Applikation der rosmarinsäurehaltigen Creme bewirkte eine signifikante Verringerung des transepidermalen Wasserverlustes nach acht Wochen. Die Autoren vermuten, dass die Rosmarinsäure zu einer Reduktion der Produktion bestimmter Zytokine führt, die an der Entstehung der atopischen Dermatitis beteiligt sind. Die atopische Dermatitis ist eine multifaktorielle Erkrankung, bei der Triggerfaktoren eine Immunantwort hervorrufen und dadurch die Barrierefunktion der Haut beeinträchtigen können. Ob die Studienergebnisse von Lee et al. (2008) also direkt auf den Zustand artifiziell geschädigter Haut übertragbar sind, ist unklar. Es scheint jedoch lohnenswert, die Wirkung von Rosmarinsäure als Wirkstoff des Salbeis auf trockene und geschädigte Haut in zukünftigen Studien näher zu untersuchen. Die Konzentration der Rosmarinsäure von 0,3% wurde in der hier vorliegenden Studie möglicherweise nicht erreicht, sodass gegebenenfalls eine höhere Konzentration der Rosmarinsäure im Salbeixtrakt einen eindeutigen Effekt auf die Funktion der Hautbarriere zeigen kann.

Die fehlende Signifikanz der Messwerte der Tewametrie unter Verwendung der Prüfpräparate muss im Kontext der erhobenen Messwerte der Corneometrie betrachtet werden. Sowohl sehr feuchte als auch trockene Haut kann die Verdunstung von Wasser über die Haut erhöhen (Blank et al., 1984). In der trockenen Haut kann die Feuchtigkeit aufgrund der geschädigten Hautbarriere nicht effektiv zurückgehalten werden. Liegt hingegen ein hoher Feuchtigkeitsgehalt im SC vor, steht mehr Feuchtigkeit zur Verdunstung über die Haut zur Verfügung. Daher geben die Tewametriewerte allein keine eindeutigen Informationen über den tatsächlichen Zustand der Haut. In der vorliegenden Studie wurde der Feuchtigkeitsgehalt unter Applikation der hydrophilen Prüfpräparate und des hydrophilen Vehikels effektiv gesteigert. Möglicherweise führte also der gesteigerte Feuchtigkeitsgehalt der Haut dazu, dass für den transepidermalen Wasserverlust im Vergleich zur Baseline keine signifikanten Unterschiede ermittelt wurden.

Die Zusammensetzung der verwendeten Vehikel ist ein zentraler Einflussfaktor auf den transepidermalen Wasserverlust. Der Feuchtigkeitsverlust nach artifizieller Schädigung der Hautbarriere durch SLS kann durch die Applikation einer wirkstofffreien hydrophilen Creme bereits nach drei Tagen signifikant reduziert werden. Eine Wiederherstellung der Funktion der Hautbarriere in Bezug auf den Feuchtigkeitsverlust ist durch die Applikation einer hydrophilen Creme nach 15 Tagen möglich (De Paépe et al., 2001). Dabei verwendeten De Paépe et al. (2001) eine O/W-Creme mit Glycerin (9%) und Dimeticon. Glycerin wirkt durch seine hygroscopischen Eigenschaften als Humectant, während Dimeticon einen Okklusionseffekt vermittelt. Die Kombination dieser beiden Inhaltsstoffe gilt als besonders effektiv um den

physiologischen Feuchtigkeitsgehalt der Haut zu regulieren (Draelos, 2012). Das verwendete hydrophile Vehikel in der vorliegenden Studie enthielt hygroskopisch wirksame Substanzen, wie Natriumlaktat, Glycerin oder Milchsäure. Die Konzentration von Glycerin war geringer als 9% und Dimeticon war nicht enthalten. In der hier vorliegenden Studie kann also die Zusammensetzung des hydrophilen Vehikels, mit geringem Anteil hygroskopisch und okklusiv wirkender Bestandteile, Ursache für die nicht signifikante Reduktion des transepidermalen Wasserverlustes sein.

Auch der in der vorliegenden Studie fehlende Einfluss des lipophilen Prüfpräparates sowie des lipophilen Vehikels auf den transepidermalen Wasserverlust der geschädigten Haut steht im Gegensatz zu den Ergebnissen anderer Studien. Der Lipidgehalt der Präparate steht wahrscheinlich in einem linearen Zusammenhang mit der Reduktion des transepidermalen Wasserverlustes nach Hautschädigung mit SLS (0,5%) (Held et al., 2001). Neben dem Lipidgehalt scheint auch das Lipid selbst Einfluss auf den Wasserverlust zu haben. Physiologische Lipide, wie Ceramide, Fettsäuren oder Cholesterin können direkt in die Lipidmatrix eingebaut werden, die fehlenden Lipide ersetzen und mit den vorhandenen Lipiden interagieren (Proksch und Lachapelle, 2005). Die in der vorliegenden Studie verwendete lipophile Cremegrundlage enthielt keine physiologischen Lipide der Hautbarriere. Der TEWL unterschied sich im Studienverlauf nicht wesentlich vom Ausgangswert, sodass das lipophile Vehikel aufgrund seiner Zusammensetzung nicht zu einem geringeren Feuchtigkeitsverlust über die Haut beitragen konnte.

Die Durchführung der Messungen gemäß den EEMCO-Guidelines (Rogiers und Group, 2001) und die Definition von Ausschlusskriterien für die Studie sollten den Einfluss von inneren und äußeren Störgrößen auf die Messergebnisse minimieren. Die Berücksichtigung aller potenzieller Einflussfaktoren ist jedoch nicht praktikabel. Die Transpiration in den Testarealen erhöht die Tewametriewerte und sollte daher durch mindestens fünfzehnminütiges Ruhen vor der Messung minimiert werden. Die Schweißsekretion durch emotionale Erregung oder Stress kann durch diese Maßnahme jedoch nicht vollständig vermieden werden.

Der Studienzeitraum der hier vorliegenden Studie ist mit knapp einer Woche relativ kurz. Andere Studien, die den Einfluss bestimmter Pflanzenextrakte bzw. derer Wirkstoffe untersuchten wurden teilweise über einen deutlich längeren Zeitraum durchgeführt (Lee et al., 2008; Reuter et al., 2010). In der Studie von Lee et al. (2008) wurden beispielsweise erst nach 8 Wochen signifikante Veränderungen des transepidermalen Wasserverlustes gemessen. Ob eine Überlegenheit der in der hier vorliegenden Studie verwendeten salbeihaltigen Prüfpräparate gegenüber dem jeweiligen Vehikel nach mehrwöchiger Anwendung vorliegt, kann nicht ausgeschlossen werden. Andererseits wird vom Anwender in der Regel eine schnelle Wirksamkeit des verwendeten Präparates gewünscht. Ob eine signifikante

Verbesserung der Hautbarriere und der Irritation der Haut durch eine längerfristige Applikation eintritt, kann nur in einer Folgestudie festgestellt werden.

### 5.2.2 Der Einfluss des Salbeiextrakts und der Vehikel auf die Hornschichthydratation

Der Feuchtigkeitsgehalt der Hornschicht spiegelt die Barriere- und die Reservoirfunktion des SC wider. Studien zeigen, dass die Applikation von Pflanzenextrakten und Antioxidantien die Hautbarriere in ihrer Funktion beeinflussen können. Hierbei spielen die antioxidative und antiinflammatorische Wirkung von Pflanzenextrakten eine zentrale Rolle. Bestimmte Pflanzenextrakte können die Keratinozytendifferenzierung, die Expression von Aquaporin und die Produktion epidermaler Proteine und Lipide beeinflussen (Casetti et al., 2011; Man et al., 2015). *Salvia officinalis* L. enthält neben Rosmarinsäure und Luteolin weitere Wirkstoffe mit hohem antioxidativem Potential.

Die vorliegende Studie gibt einen klinischen Hinweis darauf, dass die Wirkstoffe des verwendeten Salbeiextrakts durch eine Restitution der Hautbarriere den Feuchtigkeitsgehalt des SC steigern. Zwar ist die gesteigerte Hydratation des SC allein noch kein Beweis für die vollständige Barriererestitution, stellt aber eine wichtige Voraussetzung für die Ausbildung einer intakten Hautbarriere dar (Rawlings und Matts, 2005). In der Bewertung des Einflusses der Prüfpräparate ist eine Differenzierung zwischen der Wirkung des Salbeiextrakts und der Eigenwirkung des Vehikels vorzunehmen. Die hydrophilen salbeiextraktthaltigen Präparate erhöhten den Feuchtigkeitsgehalt des SC im Studienzeitraum signifikant im Vergleich zur Baseline. Unter Anwendung des 1%-igen und des 4%-igen hydrophilen Prüfpräparats war eine signifikante Steigerung der Hornschichtfeuchtigkeit nach 60 Stunden messbar. Dieser Effekt setzte unter Verwendung des 8%-igen Prüfpräparats erst nach 72 Stunden ein (Abb. 16, 17, 18). Die Behandlung der trockenen Haut mit dem hydrophilen Vehikel erbrachte nach 84 Stunden ebenfalls eine signifikante Steigerung. Zusammenfassend setzte die signifikante Steigerung der Hornschichthydratation durch die hydrophilen Prüfpräparate zwar früher ein als durch die Applikation des Vehikels, ein eindeutiger konzentrationsabhängiger Einfluss des Salbeiextrakts auf den Feuchtigkeitsgehalt der Hornschicht konnte jedoch nicht nachgewiesen werden. Die Steigerung des Feuchtigkeitsgehalts der Hornschicht in den trockenen Hautarealen ist daher wahrscheinlich auf den Vehikeleffekt zurückzuführen. Der in der vorliegenden Studie gemessene Effekt des hydrophilen Vehikels geht mit der bekannten feuchtigkeitssteigernden Wirkung hydrophiler Cremes einher. Eine direkte Beeinflussung der Hautfeuchtigkeit durch hydrophile Cremes ist möglich. Dies geschieht entweder durch ihren Wassergehalt oder durch sogenannte Humectants, die in die Hornschicht eindringen und aufgrund ihrer hygroskopischen Wirkung den Feuchtigkeitsgehalt der Hornschicht erhöhen

(Caussin et al., 2007). Die in dieser Studie verwendete hydrophile Creme enthielt Glycerin, welches zu den Humectants zählt.

Der Vergleich der Wirkung der hydrophilen Prüfpräparate mit der Wirkung der lipophilen Prüfpräparate in dieser Arbeit verdeutlicht, dass eine Wechselwirkung besteht zwischen dem Vehikel und dem Zustand des SC. Im Gegensatz zu den hydrophilen Prüfpräparaten steigerten die lipophilen Prüfpräparate den Feuchtigkeitsgehalt der Hornschicht im Studienverlauf nicht signifikant. Diese Beobachtung steht zunächst im Gegensatz zu anderen Studien, in denen lipophile Cremes den Feuchtigkeitsgehalt der Hornschicht stärker steigerten als hydrophile Cremes. Caussin et al. (2007) stellten fest, dass lipophile Präparate die Hornschicht stärker aufquellen lassen als hydrophile Präparate (Caussin et al., 2007). Eine starke Quellung wiederum deutet auf einen hohen Feuchtigkeitsgehalt des SC hin. Im Gegensatz zu der hier vorliegenden Studie führten Caussin et al. (2007) die Studie an gesunder Haut mit einer intakten Hautbarriere durch. Die größere Steigerung der Hornschichthydratation durch die lipophilen Präparate im Vergleich zu den hydrophilen Präparaten lässt sich mit der besseren Penetration der lipophilen Präparate in die intakte Lipidmatrix des SC erklären (Wickett und Visscher, 2006). In der vorliegenden Studie bewirkte die Applikation von SLS (0,5%) über 24 Stunden eine lokale entzündliche Reaktion mit einer exsudativen Phase. Dies spiegelt sich in der Corneometrie in einem initialen Anstieg der mittleren Messwerte wider (Abb. 9). Dieser akut entzündliche, nässende Hautzustand wird effizienter mit der hydrophilen als mit der lipophilen Creme behandelt, da die hydrophile Creme unter den gegebenen Bedingungen besser in die obere Hautschicht eindringen kann (Daniels und Knie, 2007; Gattu, 2010, 2011).

Trotz der Annahme, dass die Zusammensetzung des Vehikels und eine zu niedrige Konzentration der Wirkstoffe des Salbeiextrakts maßgeblich für den fehlenden Einfluss auf die Hornschichtfeuchte verantwortlich sind, muss auch der potenzielle Einfluss der Messmethode auf das Studienergebnis diskutiert werden. Lodén et al. (2001) stellten fest, dass die Verbesserung der klinischen Zeichen von trockener Haut und die Abnahme des transepidermalen Wasserverlustes nicht immer mit einer durch das Corneometer messbaren Steigerung der Hornschichthydratation einhergehen (Lodén et al., 2001). Es ist zum Beispiel möglich, dass die Zunahme der Hornschichtfeuchtigkeit nicht mithilfe der Corneometrie erfasst wird, jedoch mit anderen Messmethoden, wie zum Beispiel der Spektroskopie, nachgewiesen werden kann (Caussin et al., 2007; Crowther et al., 2008). Ob eine Steigerung der Hornschichtfeuchte vorlag, ohne dass diese durch die Corneometrie erfasst wurde, ließe sich letztendlich nur durch den zusätzlichen Einsatz einer weiteren Messmethode, wie beispielsweise der Spektroskopie differenzieren.

### 5.2.3 Der Einfluss des Salbeiextrakts und der Vehikel auf die Irritation der Haut

Die Applikation der lipophilen und der hydrophilen salbeiextrakthaltigen Prüfpräparate reduzierte den mittleren Messwert der Colorimetrie zu nahezu keinem Messzeitpunkt um mehr als etwa 10% im Vergleich zur Baseline. Statistisch signifikante Effekte der Prüfpräparate auf die trockene Haut konnten in dieser Studie weder im zeitlichen Verlauf noch in Abhängigkeit von der Salbeikonzentration nachgewiesen werden.

Dieses Studienergebnis steht im Gegensatz zu dem bekannten antiinflammatorischen Potential der Rosmarinsäure und des Luteolins, die neben vielen weiteren Wirk- und Inhaltsstoffen in *Salvia officinalis* L. enthalten sind. Die topische Applikation von Rosmarinsäure kann die Symptome trockener und irritierter Haut signifikant reduzieren (Lee et al., 2008). Im Gegensatz zu der hier vorliegenden Studie, ermittelten Lee et al. (2008) die Ausprägung der Hautirritation nicht anhand der Colorimetriewerte, sondern mithilfe eines visuellen Scores. Dies macht einen direkten Vergleich der Ergebnisse unmöglich, weist aber auf das Potential von Rosmarinsäure zur Reduktion der lokalen Entzündung und der Rötung der Haut hin. Lee et al. (2008) verwendeten eine Konzentration von 0,3% Rosmarinsäure in halbfester Formulierung. In der hier vorliegenden Studie lag die Konzentration von Rosmarinsäure laut Herstellerangaben zwischen 0,1% und 0,67%. Daher war die Konzentration der Rosmarinsäure möglicherweise geringer als 0,3%, was eine weniger starke Wirkung als in der Studie von Lee et al. (2008) erklären kann. In Folgestudien ist daher die Verwendung von mindestens 0,3% Rosmarinsäure im Salbeiextrakt empfehlenswert.

Neben der Rosmarinsäure ist das Flavonoid Luteolin ein weiterer relevanter Wirkstoff des Salbeis. Luteolin stellt in der vorliegenden Studie neben Rosmarinsäure den zweiten Wirkstoff der hydrophilen und lipophilen Prüfpräparate dar. In menschlichen Keratinozyten kann Luteolin antioxidative und antiinflammatorische Effekte vermitteln (Wölfle et al., 2011). Sowohl Luteolin als auch die glykolisierte Form, wie zum Beispiel Luteolin-7-glucosid besitzen antioxidatives und antiinflammatorisches Potential (Baolin et al., 2005; Jung et al., 2012; Park und Song, 2013). Im Tierversuch wurde nach topischer Applikation von Luteolin die Bildung eines chemisch induziertes Ohrödems verringert. Diese Wirkung war auf den antiinflammatorischen Einfluss des Luteolins zurückzuführen (Baolin et al., 2005). Dabei war der Effekt von Luteolin in verschiedenen Studien stärker als der Effekt der glykolysierten Form. Gleichzeitig war aber auch das zytotoxische Potential des Aglykons Luteolin höher als das der glykolysierten Form (Jung et al., 2012; Park und Song, 2013). Die in der vorliegenden Studie verwendete glykolysierte Form des Luteolins (Luteolin-7-glucosid) hatte eventuell einen geringeren Effekt als die Verwendung des Aglykons. Jedoch ist die glykolysierte Form des Luteolins besser wasserlöslich als Luteolin und eignet sich dadurch besser für die Verwendung in halbfesten Formulierungen.

Neben der Konzentration der Wirkstoffe des Salbeiextrakts ist auch deren Zusammensetzung ausschlaggebend für die Wirkung auf die lokale Irritation der Haut. Reuter et al. (2007) untersuchten den Effekt von Salbeiextrakt in einer hydrophilen Creme auf das Hauterythem gesunder Probanden nach Induktion des Erythems durch UV-B Strahlung. Der Salbeiextrakt enthielt 33% Phenole, darunter vor allem Carnosolsäure. Die salbeiextrakthaltige hydrophile Creme reduzierte das Hauterythem ebenso stark wie eine 1%-ige Hydrocortisoncreme. Das Vehikel selbst reduzierte die Hautrötung nicht (Reuter et al., 2007). Im Gegensatz zu der hier vorliegenden Studie untersuchten Reuter et al. (2007) ausschließlich die Rötung der Haut. Die Funktion der Hautbarriere in Bezug auf den Feuchtigkeitsgehalt und den Wasserverlust wurde nicht ausgewertet. In der vorliegenden Studie enthielt der Salbeiextrakt die Phenole Rosmarinsäure und Luteolin-7-glucosid. Insgesamt aber war der Anteil mit 0,1%-0,67% für Rosmarinsäure und 0,05%-0,5% für Luteolin-7-glucosid deutlich geringer als der Phenolgehalt in der Studie von Reuter et al. (2007). Eine höhere Konzentration der Phenole in der halbfesten Formulierung erscheint für Folgestudien daher empfehlenswert.

Die Rötung der Haut ist auf lokale Entzündungsprozesse infolge der Hautbarrierestörung zurückzuführen. Diese Entzündungsprozesse gehen unter anderem mit der Bildung von ROS einher. Der lokale oxidative Stress kann die Restitution der Hautbarriere verzögern und weitere Entzündungsprozesse triggern (Bickers und Athar, 2006). Die Reduktion der ROS kann zum Rückgang der Hautrötung führen. In menschlichen Korneozyten kann Rosmarinsäure *in vitro* antioxidativ wirken (Vostálová et al., 2010). Hier wird die Produktion von ROS unabhängig von der Konzentration der Rosmarinsäure verringert. Der Rückgang der bereits produzierten ROS hingegen ist abhängig von der Konzentration der Rosmarinsäure. Im Gegensatz zu Vostálová et al. (2010) wurde in der hier vorliegenden Studie keine biochemische Analyse der Hornschichtzellen durchgeführt und allein die nicht-invasive Messung der Hautröte wurde zur Beurteilung des antiirritativen Effekts der verwendeten Prüfpräparate herangezogen. Anhand dieses Versuchsaufbaus konnte kein antiirritativer Effekt der verwendeten Prüfpräparate ermittelt werden. Inwiefern der von Vostálová et al. (2010) *in vitro* nachgewiesene ROS-reduzierende Effekt von Rosmarinsäure auch auf *in vivo* Bedingungen nach topischer Applikation zutrifft, sollte Gegenstand zukünftiger Forschung sein.

Die Interaktion zwischen dem Wirkstoff, dem Vehikel und der Hornschicht ist ein wichtiger Faktor für die Wirksamkeit des verwendeten Präparates. Für eine effektive Wirkung auf das gestörte Mikromilieu der Hornschicht müssen die relevanten Wirkstoffe des Salbeiextrakts von den topisch applizierten Produkten in die Hornschicht transportiert und dort zuverlässig aus dem Vehikel freigelassen werden. Eine intakte Hautbarriere stellt ein Penetrationshindernis für die Cremegrundlage und die darin enthaltenen Wirk- und

Inhaltsstoffe dar. Aufgrund des in dieser Studie artifiziell induzierten Schadens der Barrierefunktion kann in der vorliegenden Studie jedoch eine ausreichende Bioverfügbarkeit der relevanten Wirkstoffe des Salbeiextrakts vorausgesetzt werden. Insbesondere das hydrophile Präparat kann hierdurch gut in die Hornschicht aufgenommen werden (Daniels und Knie, 2007). Ob die Aufnahme der Polyphenole in die Hornschicht möglich ist, hängt neben der Konzentration auch von ihrer Molekülgröße und Polarität sowie der Zusammensetzung des Vehikel ab (Ratz-Yko et al., 2015). Zwar wurde die Penetrationsfähigkeit in das SC noch nicht für alle relevanten Wirkstoffe des Salbeis untersucht, die Penetration von Luteolin in die gesunde menschliche Haut wurde aber bereits nachgewiesen (Merfort et al., 1994). Die Penetration von Luteolin ist vermutlich abhängig davon, ob es in glykolysierter Form oder als Aglykon vorliegt. Für das in der vorliegenden Studie verwendete Luteolin-7-glucosid liegt keine einheitliche Aussage zur Penetrationsfähigkeit vor. *In vivo* Studien erbrachten Hinweise, dass Aglykone leichter in die Haut penetrieren als das jeweilige Glykosid (Ratz-Yko et al., 2015). Gleichzeitig weist das Glykosid eine bessere Wasserlöslichkeit auf als das Aglykon. Dadurch wird der Übertritt in die Hornschicht bei einem nässenden Hautzustand erleichtert. Somit ist die Penetrationsfähigkeit für Luteolin-7-glucosid unter den hier gegebenen Studienbedingungen anzunehmen. Die zweite Hauptwirksubstanz in dieser Studie ist die Rosmarinsäure. In einer Studie wurde bereits der Effekte von Rosmarinsäure auf die Barriерerestitution nachgewiesen, was die Penetrationsfähigkeit von Rosmarinsäure in die Epidermis nahelegt (Lee et al., 2008). Eine weitere Studie untersuchte die Penetrationsfähigkeit von Rosmarinsäure in die menschliche Haut *ex vivo* (Stelmakiene, et al., 2015). Diese ergab, dass die Freilassung der Rosmarinsäure aus dem Vehikel maßgeblich von dessen Zusammensetzung abhängig ist, die Rosmarinsäure aber stets in der Epidermis akkumuliert und nicht in tiefere Hautschichten eindringt. Ob die Hauptwirksubstanzen Rosmarinsäure und Luteolin-7-glucosid in die Hornschicht eindringen konnten, wurde in der vorliegenden Studie nicht untersucht. Daher bleibt unklar, ob möglicherweise eine zu geringe Menge der Wirkstoffe in der Hornschicht angereichert wurde und so eine Erklärung für den fehlenden bzw. nur geringen Einfluss der salbeiextrakthaltigen Prüfpräparate auf die Barrierefunktion und die Irritation der Haut darstellt.

Die Freisetzung des Wirkstoffes und damit auch der Effekt auf die lokale Entzündungsreaktion ist abhängig von der Löslichkeit des Wirkstoffes im Vehikel (Daniels und Knie, 2007). Die nicht signifikante Reduzierung der Hautrötung in der vorliegenden Studie kann durch die ungenügende Freisetzung der potenziell wirksamen Inhaltsstoffe des Salbeiextrakts in das SC bedingt sein. In der Studie wurden hydrophile und lipophile halb feste Formulierungen verwendet. In der hydrophilen Creme bildet das Wasser die kontinuierliche Phase, in der die lipophilen Bestandteile emulgiert sind. In der lipophilen Creme liegt das Wasser in der lipophilen Phase als Tröpfchen vor (Daniels und Knie, 2007; Fluhr und Rigano,

2004). Die in dieser Studie verwendeten Prüfpräparate enthielten wässrigen Salbeiextrakt mit den potenziell antiirritativen Polyphenolen Rosmarinsäure und Luteolin-7-glucosid. Eine unterschiedlich ausgeprägte Wirkung der lipophilen und hydrophilen Prüfpräparate auf die geschädigte Haut war zu erwarten. Nach der Applikation der hydrophilen Creme müsste der Salbeiextrakt also entweder mit dem Wasseranteil gemeinsam in das SC aufgenommen werden oder in konzentrierter Form auf der Hautoberfläche zurückbleiben. Die Freisetzung der Wirkstoffe aus dem lipophilen Vehikel wäre dann verzögert, da der wässrige Salbeiextrakt in der lipophilen äußeren Phase emulgiert ist und nicht direkt mit der Hornschicht in Kontakt tritt. Wider Erwarten zeigt der Vergleich der Mediane der Colorimetrie nach Applikation der hydrophilen Prüfpräparate und der lipophilen Prüfpräparate keinen wesentlichen Unterschied des antiirritativen Effekts. Die Mediane unterscheiden sich weder in Abhängigkeit der verwendeten Grundlage noch in Bezug auf die Konzentration des Salbeiextrakts wesentlich von der Baseline. Verlässliche Rückschlüsse auf eine unterschiedliche Freisetzung der potenziell antiirritativ wirksamen Inhaltsstoffe aus den Vehikeln zu ziehen, ist dadurch nicht möglich. Inwieweit die Freisetzung der relevanten Wirkstoffe des Salbeiextrakts und deren anschließende Penetration in das SC realisiert wurden und sich möglicherweise unterschieden, lässt sich lediglich mithilfe von weiteren Untersuchungsmethoden feststellen. Dazu gehören zum Beispiel die Diffusionszelle, die Spektroskopie und das Tape Stripping Verfahren in Kombination mit der HPLC. Eine Möglichkeit die Freisetzung und die Penetration der potenziell antioxidativ und antiinflammatorisch wirksamen Inhaltsstoffe zu steigern und damit eine Wirkung gegen die Hautrötung zu erzielen, besteht in einer ausreichend hohen Sättigung der Cremegrundlage mit dem Salbeiextrakt. Der hohe Konzentrationsunterschied zwischen der Cremegrundlage und der Hornschicht fördert die Penetration der Wirkstoffe (Moser et al., 2001). Potenzielle irritative Effekte, die mit der erhöhten Konzentration des Salbeiextrakts einhergehen können, müssen dabei allerdings berücksichtigt werden.

Die Cremegrundlage selbst kann auch ohne Zusatz eines bestimmten Wirkstoffes die Funktion der Hautbarriere beeinflussen (Daniels und Knie, 2007). Die Steigerung der Hornschichtfeuchte und die Reduzierung des transepidermalen Wasserverlustes durch Anwendung einer Creme auf die geschädigte Haut begünstigen die Entwicklung einer physiologischen Hautbarriere (Rawlings und Matts, 2005). Dadurch ist auch eine Reduzierung der lokalen Hautirritation möglich. Dieser Effekt wurde in der vorliegenden Studie nicht gemessen. Zwar steigerte das hydrophile Vehikel ab 24 Stunden nach Studienbeginn die Hornschichtfeuchte signifikant, eine signifikante Reduzierung der Hautrötung war aber nicht messbar. Allerdings war der mittlere Messwert für die Hautrötung ab 12 Stunden nach Studienbeginn bis zum Studienende geringer als der Baselinewert. Das lipophile Vehikel bewirkte eine nicht signifikante Steigerung der Hornschichtfeuchte und eine nicht signifikante Reduzierung der Hautröte. Die Ursache für die nicht signifikanten Messergebnisse in Bezug

auf die Irritation der Haut ist vermutlich in der Zusammensetzung des jeweiligen Vehikels begründet.

Einfluss auf lokale biochemische Abläufe, die zur Reduzierung des lokalen Entzündungsprozesses führen können, haben zum Beispiel physiologische Lipide, wie die Ceramide (Proksch und Lachapelle, 2005). Durch die Hemmung des lokalen Entzündungsprozesses wird die Haut weniger empfindlich gegenüber schädlichen Substanzen und eine weitere Schädigung der Hautbarriere wird verhindert (Lodén, 2005). Dabei ist der Effekt der jeweiligen Creme auf die Rötung der Haut von den verwendeten Inhaltsstoffen abhängig. Sowohl der Lipidgehalt als auch die Art des Lipids sind entscheidend für die Wirkung der Creme auf die Rötung der Haut. Eine Creme, mit einem Petrolatum- und Lipidgehalt von 100%, aber ohne physiologische Lipide reduziert das Hauterythem signifikant. Ebenso verringert eine Creme mit einem Lipidgehalt von 63%, welche sowohl Petrolatum, als auch Cholesterol und Ceramide enthält, das Hauterythem deutlich. Eine Creme mit 70% Lipidgehalt ohne Petrolatum oder physiologische Lipide hingegen, kann das Erythem nicht signifikant verringern (Held et al., 2001). In der vorliegenden Studie enthielt das hydrophile Vehikel Sheabutter, Jojobaöl, Avocadoöl und Cetylpalmitat und das lipophile Vehikel enthielt Bienenwachs, Avocadoöl und Cetylpalmitat. Dabei handelt es sich bei allen in dieser vorliegenden Studie verwendeten Lipide um nicht physiologische Lipide. Die Zusammensetzung der verwendeten Vehikel konnte nicht zu einer effektiven Reduktion des Erythems beitragen.

Bei der Beurteilung der in der vorliegenden Studie fehlenden Wirksamkeit des Salbeiextrakts auf die Irritation der Haut muss berücksichtigt werden, dass Salbei ein Naturprodukt ist. Die biologische Wirksamkeit des Salbeis ist abhängig von den Umweltbedingungen während des Wachstums, dem Erntezeitpunkt und der Aufbewahrung des Salbeis. Auch das Extraktionsverfahren beeinflusst die Wirksamkeit des Extrakts (Baricevic et al., 2001; Thornfeldt, 2005). So scheint beispielsweise das Chloroformextrakt des Salbeis gegenüber das chemisch induzierte Ohrödem stärker zu reduzieren als das methanolische Salbeiextrakt (Baricevic et al., 2001). In der vorliegenden Studie wurde der Salbei hingegen wässrig extrahiert. Inwiefern der Effekt des Salbeiextrakts auf die Irritation der Haut in der vorliegenden Studie durch die Extraktionsmethode beeinflusst wurde und ob eine andere Extraktionsmethode die Rötung der Haut besser reduziert, kann in Folgestudien untersucht werden.

Nicht immer erlauben die erhobenen Messwerte der Colorimetrie direkte Rückschlüsse auf den Zustand der Haut. Eine signifikante Senkung des TEWL und eine signifikante Steigerung der Hornschichtfeuchtigkeit bewirken nicht immer die signifikante Reduktion des Erythems (Löffler und Effendy, 2002). Auch Held et al. (2001). stellten trotz signifikanter Reduktion des TEWL und signifikanter Steigerung der Corneometriewerte in der visuellen

Beurteilung des Erythems keine signifikante Reduktion fest (Held et al., 2001). Dies deckt sich mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie: Das hydrophile Vehikel erhöhte zwar den Feuchtigkeitsgehalt der Hornschicht, reduzierte das Erythem aber nicht signifikant im Vergleich zur Baseline.

### **5.3 Fazit und Ausblick**

Auch wenn die vorliegende Arbeit keine Effekte von Salbeiextrakt in hydrophiler bzw. lipophiler halbester Formulierung auf die Barriererestitution und die Irritation der menschlichen Haut nachweisen konnte, ist das antioxidative und antiinflammatorische Potential der Wirkstoffe Rosmarinsäure und Luteolin-7-glucosid unbestritten groß. Um die Wirkung der potenziell antiirritativen Wirkstoffe Rosmarinsäure und Luteolin-7-glucosid des Salbeiextrakts auf die gestörte Hautbarrierefunktion genauer zu evaluieren sind allerdings weitere Untersuchungen notwendig. Die Analyse der Penetration des Vehikels und der Freisetzung der Rosmarinsäure und des Luteolin-7-glucosids aus der Cremegrundlage könnte mithilfe der Diffusionszelle, dem Saarbrücker-Penetrationsmodell, der Spektroskopie oder durch das Tape Stripping Verfahren in Kombination mit der HPLC durchgeführt werden. Für die Freisetzungsuntersuchungen stehen künstliche sowie biologische Membranen zur Verfügung. Bei insuffizienter Verfügbarkeit der Wirkstoffe in der Hornschicht müsste eine veränderte Zusammensetzung gewählt werden. Hierbei kann die Aufnahme der Wirkstoffe in die Hornschicht durch die Konzentrationssteigerung der Wirkstoffe in der Cremegrundlage, welche zur Steigerung des Konzentrationsgefälles führt, erleichtert werden. Sollte die Analyse der Penetration ergeben, dass die Bioverfügbarkeit der Wirkstoffe in der oberen Hautschicht sehr gering ist, kann möglicherweise eine Konzentrationssteigerung von Rosmarinsäure und Luteolin-7-glucosid dazu führen, dass eine signifikante Verbesserung der Barrierefunktion der Haut erzielt wird.

Eine größere Studienpopulation kann bei nicht wahrer Nullhypothese Effekte der Prüfpräparate aufzeigen, die in dieser Studie unentdeckt blieben. Dies könnte zum Beispiel in einer Folgestudie mit größeren Probandenzahlen untersucht werden.

Die praktische Relevanz von Salbeiextrakt wird auch bei Betrachtung der mikrobiellen Besiedlung der Ekzeme von Menschen mit atopischer Dermatitis deutlich. Bei diesen ist eine Besiedelung mit *Staphylokokkus aureus* sehr häufig (Leyden et al., 1974) und die Schwere der Hautschädigung steht im Zusammenhang mit der Bakteriendichte auf der Haut (Guzik et al., 2005). Außerdem kann die Besiedelung mit *Staphylokokkus aureus* zur Exazerbation der atopischen Dermatitis führen und den Verlauf der Erkrankung beeinflussen. Die ätherischen Öle des echten Salbeis reduzieren auf Oberflächen die Besiedlung mit *Staphylokokkus aureus* (Bouaziz et al., 2009). Dies wurde bisher noch nicht an menschlicher Haut nachgewiesen. Falls diese keimreduzierende Wirkung des Salbeis auch auf menschlicher Haut nachweislich

eintritt, kann eine Creme mit Salbeiextrakt zur Restitution der Hautbarriere beitragen und die klinischen Zeichen positiv beeinflussen. Ob Inhaltsstoffe des Salbeis auch die Keimbeseidung auf menschlicher Haut reduzieren, war nicht Gegenstand der vorliegenden Studie. Eine klinische Studie an Probanden, deren Haut nachweislich mit *Staphylokokkus aureus* besiedelt ist, kann diesbezüglich Klarheit bringen.

Juckreiz kann ein sehr störendes Symptom trockener Haut sein. Im Tierversuch konnte der juckreizreduzierende Effekt von Luteolin nachgewiesen werden (Baolin et al., 2005). Ob jedoch der Salbeiextrakt diesen Effekt auch in menschlicher Haut hat, ist nicht bekannt. Der Juckreiz-Kratz-Kreislauf kann dazu führen, dass die Haut erneut verletzt und die Ausbildung einer gesunden Hautbarriere verzögert wird (Harding, 2004). Eine Unterbrechung dieses Kreislaufs trägt also dazu bei, dass die physiologische Reparatur der Hautbarriere nicht gestört wird. Ob der Salbeiextrakt diesen Effekt auch in menschlicher Haut vermittelt, wurde in der vorliegenden Studie nicht erforscht. Weitere Untersuchungen zum Einfluss von Salbeiextrakt und seinen Wirkstoffen auf den Juckreiz bei trockener Haut erscheinen vor diesem Hintergrund jedoch lohnenswert.

Studien zeigen, dass PPAR in die Prozesse der Zellproliferation, Zelldifferenzierung und Barriererestitution der menschlichen Haut involviert sind (Di-Poï et al., 2004; Elias, 2005; Rawlings, 2003). Man differenziert drei Isotypen (PPAR- $\alpha$ , - $\beta$  und - $\gamma$ ) mit unterschiedlicher Funktion und Verteilung im menschlichen Körper, wobei alle drei Isotypen in der menschlichen Haut vorkommen (Di-Poï et al., 2004). *In vitro* erhöhen pharmazeutische Liganden für PPAR die Synthese von Transglutaminase, Involucrin und Fillagrin und verbessern die Bildung des CE (Rawlings, 2003). PPAR- $\beta$  stellt den vorherrschenden Isotyp in der menschlichen Keratinozyten dar. Liganden an PPAR- $\beta$  und PPAR- $\alpha$  können zur Verbesserung der Barrierefunktion und zur Entzündungshemmung beitragen. Für PPAR- $\gamma$  wurden bisher antiinflammatorische Effekte festgestellt (Di-Poï et al., 2004; Elias, 2005). Carnosol und Carnosolsäure - wichtige Wirkstoffe des Salbeis - können am PPAR- $\gamma$  agonistisch wirken (Kianbakht und Dabaghian, 2013; Rau et al., 2006). Der agonistische Effekt von Ursolsäure und Oleanolsäure an PPAR- $\alpha$  konnte bereits im Tierversuch bestätigt werden. In diesem Versuch wurde die Restitution der Hautbarriere durch Ursolsäure und Oleanolsäure nach Schädigung der Hautbarriere durch Tape-stripping nachgewiesen (Lim et al., 2007). Inwiefern weitere Inhaltsstoffe des Salbeis über den PPAR- $\gamma$  Einfluss auf die lokale Entzündung und die Barriererestitution haben und ob weitere Inhaltsstoffe des Salbeis Liganden an PPAR- $\alpha$  und PPAR- $\beta$  sind, kann Gegenstand weiterführender Untersuchungen sein.

## 6 Zusammenfassung

Eine Schädigung der Hautbarriere führt zur Austrocknung der Haut, die durch invasive und nicht- invasive Messmethoden nachweisbar ist. Trockene Haut ist ein häufiges Symptom verschiedener Hauterkrankungen, kann aber auch Menschen ohne bekannte Erkrankungen der Haut betreffen, da verschiedene endogene und exogene Einflüsse die Funktion der Hautbarriere beeinflussen können. Die Prävalenz von trockener Haut in der Bevölkerung ist hoch, stellt für die Betroffenen häufig ein kosmetisch und medizinisch relevantes Problem dar und kann die Lebensqualität erheblich beeinflussen.

Die Symptome einer gestörten Barrierefunktion des Stratum corneum sind die Vergröberung des Hautreliefs, Hautschuppung und Fissuren der Hautoberfläche. Darüber hinaus kann eine lokale Rötung der Haut auftreten. Begleitend kann starker und belastender Juckreiz hinzukommen. Die lokalen Entzündungsreaktionen, gehen mit der Ausschüttung von Zytokinen und der Bildung von reaktive Sauerstoffspezies einher, welche durch oxidativen Stress die Restitution der Hautbarriere verzögern können. Flavonoide und andere phenolische Inhaltsstoffe antagonisieren die Zytokine und dienen als Radikalfänger, hemmen die ROS-Produktion und aktivieren antioxidative Enzyme. Echter Salbei (*Salvia officinalis* L.) ist ein etabliertes Heilmittel in der traditionellen Volksmedizin und besitzt antioxidativ und antiinflammatorisch wirksame Inhaltsstoffe. Schwerwiegende unerwünschte Effekte durch die topische Applikation von Salbeixtrakten sind bisher nicht dokumentiert. Die Verwendung von Hautpflegeprodukten mit Salbeixtrakt zur Behandlung von trockener und irritierter Haut ist daher vielversprechend.

Die vorliegende Studie untersuchte, ob durch tägliche Applikation von salbeixtrakthaltiger hydrophiler (1%, 4%, 8% Salbeiblattextrakt) und salbeixtrakthaltiger lipophiler (3%, 12%, 25% Salbeiblattextrakt) Creme eine Restitution der Hautbarriere erreicht wird. Außerdem wurde der Effekt der Prüfpräparate auf die lokale Irritation der Haut untersucht. Hauptwirksubstanzen waren Rosmarinsäure (0,10%–0,67%) und Luteolin-7-glucosid (0,05%–0,50%), die zu den sekundären Pflanzenstoffen zählen.

Die Messungen erfolgten an 15 gesunden Probanden vehikelkontrolliert nach artifizieller Hautschädigung mit SLS (0,5%). Die Objektivierung des Hautzustandes erfolgte über 6 Tage im Abstand von 12 Stunden mithilfe nicht-invasiver Messmethoden. Zielparameter waren der transepidermale Wasserverlust und der Feuchtigkeitsgehalt der Hornschicht zur Objektivierung der Barrierefunktion sowie der Rotwert der Haut zur Objektivierung der Irritation.

Die topische Applikation der hydrophilen Creme mit Salbeixtrakt steigerte den Feuchtigkeitsgehalt der Hornschicht im Vergleich zur unbehandelten Haut signifikant. Diese Wirkung trat bei der Applikation der salbeixtrakthaltigen hydrophilen Prüfpräparate bis zu

24 Stunden früher ein als bei Applikation des hydrophilen Vehikels. Allerdings war kein konzentrationsabhängiger Einfluss der Prüfpräparate nachweisbar, sodass die Messergebnisse wahrscheinlich auf den Vehikeffekt zurückzuführen sind. Die lipophilen Präparate steigerten den Feuchtigkeitsgehalt der Hornschicht nicht signifikant. Der transepidermale Wasserverlust und die Rötung der Haut wurden weder durch das hydrophile noch durch das lipophile Präparat signifikant verringert. Mögliche Ursachen für den geringen Einfluss der verwendeten Cremes auf die Restitution der Hautbarriere und die Irritation der Haut sind die Zusammensetzung der Vehikel, die zu geringe Konzentration der antioxidativen und antiinflammatorischen Wirkstoffe des Salbeiextrakts oder die relativ kleine und bezüglich der Hautschädigung inhomogene Studienpopulation.

Das Potential von Salbeiextrakten zur Barriererestitution in menschlicher Haut ist mit dieser Studie nicht widerlegt. Weitere Studien zum Effekt von Salbeiextrakt auf die Barriererestitution sollten angestrebt werden. Dabei sollte berücksichtigt werden, dass eine höhere Konzentration der potentiell wirksamen Inhaltsstoffe des Salbeiextrakts, eine größere Homogenität der Hautschädigung und eine größere Studienpopulation eindeutigere Ergebnisse bringen können. So könnten Trends, die sich in der Steigerung der Hornschichthydratation lediglich andeuteten, in einer größeren Studienpopulation Signifikanzen zeigen. Ob ein längerer Studienzeitraum zur Erhöhung der Wahrscheinlichkeit von signifikanten Ergebnissen sinnvoll ist, ist fraglich, da vom Betroffenen, der die entsprechende Creme zur Reduktion der Symptome appliziert, in der Regel ein möglichst zeitnahes Resultat gewünscht wird. Zusammenfassend erlauben die Ergebnisse dieser Studie nicht, den potentiellen Nutzen von wässrig extrahiertem Salbeiextrakt von *Salvia officinalis* L. zur Wiederherstellung der Barrierefunktion des Stratum corneum und zur Reduktion der Irritation der menschlichen Haut auszuschließen.

## 7 Literaturverzeichnis

- Abu-Darwish MS, Cabral C, Ferreira IV, Gonçalves MJ, Cavaleiro C, Cruz MT, Salgueiro L (2013) Essential oil of common sage (*Salvia officinalis* L.) from Jordan: Assessment of safety in mammalian cells and its antifungal and anti-inflammatory potential. *BioMed Research International* 2013: 1–9.
- Akhondzadeh S, Noroozian M, Mohammadi M, Ohadinia S, Jamshidi H, Khani M (2003) *Salvia officinalis* extract in the treatment of patients with mild to moderate Alzheimer's disease: a double blind, randomized and placebo-controlled trial. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics* 28: 53–59.
- Auster F, Schäfer, J: *Salvia officinalis* L. Verlag Dr. Willmar Schwabe, Leipzig 1952, S. 1-11.
- Baolin L, Weiwei W, Ning T (2005) Topical application of luteolin inhibits scratching behavior associated with allergic cutaneous reaction in mice. *Planta Medica* 71: 424–8.
- Barankin B, DeKoven J (2002) Psychosocial effect of common skin diseases. *Canadian Family Physician* 48: 712–716.
- Barco D, Giménez-Arnau A (2008) Xerosis: a Dysfunction of the Epidermal Barrier. *Actas Dermo-Sifiliográficas (English Edition)* 99: 671–682.
- Baricevic D, Sosa S, Della Loggia R, Tubaro A, Simonovska B, Krasna A, Zupancic A (2001) Topical anti-inflammatory activity of *Salvia officinalis* L. leaves: the relevance of ursolic acid. *Journal of Ethnopharmacology* 75: 125–132.
- Baroni A, Buommino E, De Gregorio V, Ruocco E, Ruocco V, Wolf R (2012). Structure and function of the epidermis related to barrier properties. *Clinics in Dermatology* 30: 257–262.
- Ben Farhat M, Haouech-Hamada J, Landoulsi A., Sotomayo JA (2009) Variations in Essential Oil, Phenolic Compounds, and Antioxidant Activity of Tunisian Cultivated *Salvia officinalis* L. *J. Agric. Food Chem.* 57: 10349–10356.
- Berardesca E, EEMCO. (1997) Guidance for the Assessment of Stratum Comeurn Hydration: Electrical Methods. *Skin Research and Technology* 3: 126–132.
- Bickers DR, Athar M (2006) Oxidative Stress in the Pathogenesis of Skin Disease. *Journal of Investigative Dermatology* 126: 2565–2575.
- Blank IH, Moloney J, Emslie A G, Simon I, Apt C (1984) The diffusion of water across the stratum corneum as a function of its water content. *The Journal of Investigative Dermatology* 82: 188–94.
- Boehncke W, Zollner TM (1999) Die Rolle bakterieller Superantigene in der Pathophysiologie der Haut. *Der Hautarzt* 50: 91–97.
- Bouaziz M, Yangui T, Sayadi S, Dhoub A (2009) Disinfectant properties of essential oils from *Salvia officinalis* L. cultivated in Tunisia. *Food and Chemical Toxicology* 47: 2755–2760.
- Burkhard PR, Burkhardt K, Landis T, Haenggeli CA (1999) Plant-induced seizures: Reappearance of an old problem. *Journal of Neurology* 246: 667–670.
- Callaghan, TM, Wilhelm, K (2008). Review Article A review of ageing and an examination of clinical methods in the assessment of ageing skin . Part 2 : Clinical perspectives and clinical methods in the evaluation of ageing skin. *International Journal of Cosmetic Science* 30: 323–332.
- Casetti F, Wölfle U, Gehring W, Schempp CM (2011) Dermocosmetics for Dry Skin : A New Role for Botanical Extracts. *Skin Pharmacology and Applied Skin Physiology* 24: 289–293.

- Caussin J, Groenink HWW, De Graaff AM, Gooris GS, Wiechers JW, Van Aels AC, Bouwstra JA (2007) Lipophilic and hydrophilic moisturizers show different actions on human skin as revealed by cryo scanning electron microscopy. *Experimental Dermatology* 16: 891–898.
- Christensen KB, Jørgensen M, Kotowska D, Petersen R K, Kristiansen K, Christensen LP (2010) Activation of the nuclear receptor PPAR gamma by metabolites isolated from sage (*Salvia officinalis* L.). *Journal of Ethnopharmacology* 132: 127–133.
- Crowther JM, Sieg, Blenkiron P, Marcott C, Matts PJ, Kaczvinsky JR, Rawlings A V (2008) Measuring the effects of topical moisturizers on changes in stratum corneum thickness, water gradients and hydration in vivo. *British Journal of Dermatology* 159: 567–577.
- Cuvelier ME, Richard H, Berset C (1996) Antioxidative activity and phenolic composition of pilot-plant and commercial extracts of sage and rosemary. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 73: 645–652.
- Daniels R, Knie U (2007) Galenics of dermal products-vehicles, properties and drug release. *JDDG* 5: 367–383.
- Deans SG, Simpson EJM: Antioxidants from *Salvia officinalis*. In: Kintzios, SE (Ed.): Sage: The Genus *Salvia*. CRC Press, Amsterdam, 2000, pp. 185-192
- Deklaration von Helsinki (2013) Ethische Grundsätze für die medizinische Forschung am Menschen. Retrieved from [http://www.bundesaerztekammer.de/fileadmin/user\\_upload/Deklaration\\_von\\_Helsinki\\_2013\\_DE.pdf](http://www.bundesaerztekammer.de/fileadmin/user_upload/Deklaration_von_Helsinki_2013_DE.pdf)
- De Paépe K, Hachem JP, Vanpee E, Goossens A, Germaux M, Lachapelle JM, Rogiers V (2001) Beneficial effects of a skin tolerance-tested moisturizing cream on the barrier function in experimentally elicited irritant and allergic contact dermatitis. *Contact Dermatitis* 44: 337–43.
- Di-Poï N, Michalik L, Desvergne B, Wahli W (2004) Functions of peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR) in skin homeostasis. *Lipids* 39: 1093–1099.
- Dong E, Kim H, Park T, Shin K, Bae I, Lim K, Ryong T (2014) *Staphylococcus aureus* inhibits terminal differentiation of normal human keratinocytes by stimulating interleukin-6 secretion. *Journal of Dermatological Science* 74: 64–71.
- Draelos ZD (2012) New treatments for restoring impaired epidermal barrier permeability: Skin barrier repair creams. *Clinics in Dermatology* 30: 345–348.
- Dweck AC: The Folklore and Cosmetic Use of Various *Salvia* Species. In: Kintzios, SE (Ed.): Sage: The Genus *Salvia*. CRC Press, Amsterdam, 2000, pp. 1-25.
- Eidi M, Eidi A, Zamanizadeh H (2005) Effect of *Salvia officinalis* L. leaves on serum glucose and insulin in healthy and streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology* 100: 310–313.
- Elias PM (2005) Stratum corneum defensive functions: An integrated view. *Journal of Investigative Dermatology* 125: 183–200.
- Esser PR, Wölfle U, Dürr C, von Loewenich FD, Schempp CM, Freudenberg MA, Martin SF (2012) Contact sensitizers induce skin inflammation via ROS production and hyaluronic acid degradation. *Plos one* 7: 1–16.
- Fluhr JW, Gloor M, Lazzarini S, Klees, P, Grieshaber R, Berardesca E (1999) Comparative study of five instruments measuring stratum corneum hydration (Comeometer CM 820). *Skin Research and Technology* 5: 161–170.
- Fluhr JW, Rigano L (2004) Clinical effects of cosmetic vehicles on skin. *Journal of Cosmetic Science* 205: 189–205.
- Fullerton A, Fischer T, Lahti A, Wilhelm KP, Takiwaki H, Serup J (1996) Guidelines for

- measurement of skin colour and erythema. A report from the Standardization Group of the European Society of Contact Dermatitis. *Contact Dermatitis* 35: 1–10.
- Gattu S, Maibach HI (2010) Enhanced Absorption through Damaged Skin: An Overview of the in vitro Human Model. *Skin Pharmacology and Physiology* 23: 171–176.
- Gattu S, Maibach HI (2011) Modest but Increased Penetration through Damaged Skin: An Overview of the in vivo Human Model. *Skin Pharmacology and Physiology* 24: 2–9.
- Giannouli AL, Kintzios SE: Essential Oils of *Salvia* Spp.: Examples of Intraspecific and Seasonal Variation. In: Kintzios, SE (Ed.): Sage: The Genus *Salvia*. CRC Press, Amsterdam, 2000, pp. 69-79
- Gloor M, Gehring W (2003) Effects of emulsions on the stratum corneum barrier and hydration. *Der Hautarzt* 54: 324–330.
- Guzik T J, Bzowska M, Kasprowicz A, Czerniawska-Mysik G, Wójcik K, Szmyd D, Pryjma J (2005) Persistent skin colonization with *Staphylococcus aureus* in atopic dermatitis: relationship to clinical and immunological parameters. *Clinical and Experimental Allergy: Journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology* 35: 448–55.
- Halicioglu O, Astarcioglu G, Yaprak I, Aydinlioglu H (2011) Toxicity of *salvia officinalis* in a newborn and a child: An alarming report. *Pediatric Neurology* 45: 259–260.
- Halvorsen JA, Braae Olesen A, Thoresen M; Holm JØ, Bjertness E, Dalgard F (2008) Comparison of Self-reported Skin Complaints with Objective Skin Signs Among Adolescents. *Acta Derm Venerol* 88: 573–577.
- Harding C (2004) The stratum corneum: structure and function in health and disease. *Dermatologic Therapy* 17: 6–15.
- Harding C, Long S, Richardson J, Rogers J, Zhang Z, Bush A, Rawlings AV (2003) The cornified cell envelope: An important marker of stratum corneum maturation in healthy and dry skin. *International Journal of Cosmetic Science* 25: 157–167.
- Held E, Lund H, Agner T (2001) Effect of different moisturizers on SLS-irritated human skin. *Contact Dermatitis* 44: 229–234.
- Hjorth AB, Christophersen C, Hausen BM, Menné T (1997) Occupational allergic contact dermatitis from carnosol, a naturally-occurring compound present in rosemary. *Contact Dermatitis* 37: 99–100.
- Horiuchi K, Shiota S, Hatano T, Yoshida T, Kuroda T, Tsuchiya T (2007a) Antimicrobial activity of oleanolic acid from *Salvia officinalis* and related compounds on vancomycin-resistant enterococci (VRE). *Biological & Pharmaceutical Bulletin* 30: 1147–1149.
- Horiuchi K, Shiota S, Kuroda T, Hatano T, Yoshida T, Tsuchiya T (2007b) Potentiation of antimicrobial activity of aminoglycosides by carnosol from *Salvia officinalis*. *Biological & Pharmaceutical Bulletin* 30: 287–290.
- Hurlow J, Bliss DZ (2011) Dry Skin in Older Adults. *Geriatric Nursing* 32: 257–262.
- Hutchinson D (1997) *GCP-Handbuch für Prüfärzte: Ein praktischer Führer zu den Bestimmungen der Internationalen Kommission für Harmonisierung (ICH)*. Richmond, Surrey, UK: Brookwood Medical Publications.
- Jang AH, Kim TH, Kim GD, Kim JE, Kim HJ, Kim SS, Park CS (2011) Rosmarinic acid attenuates 2,4-dinitrofluorobenzene-induced atopic dermatitis in NC/Nga mice. *International Immunopharmacology* 11: 1271–1277.
- Jemec GB, Wulf HC (1996) Patient-physician consensus on quality of life in dermatology. *Clinical and Experimental Dermatology* 21: 177–179.
- Jung HA, Jin SE, Min B S, Kim BW, Choi JS (2012) Anti-inflammatory activity of Korean thistle *Cirsium maackii* and its major flavonoid, luteolin 5-O-glucoside. *Food and*

- Chemical Toxicology, 50: 2171–2179.
- Kao JS, Fluhr JW, Man MQ, Fowler AJ, Hachem JP, Crumrine D, Feingold KR (2003) Short-Term Glucocorticoid Treatment Compromises Both Permeability Barrier Homeostasis and Stratum Corneum Integrity: Inhibition of Epidermal Lipid Synthesis Accounts for Functional Abnormalities. *Journal of Investigative Dermatology* 120: 456–464.
- Kennedy DO, Pace S, Haskell C, Okello E J, Milne A, Scholey AB (2006). Effects of cholinesterase inhibiting sage (*Salvia officinalis*) on mood, anxiety and performance on a psychological stressor battery. *Neuropsychopharmacology : Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology* 31: 845–852.
- Kianbakht S, Dabaghian FH (2013) Improved glycemic control and lipid profile in hyperlipidemic type 2 diabetic patients consuming *Salvia officinalis* L. leaf extract: A randomized placebo. Controlled clinical trial. *Complementary Therapies in Medicine* 21: 441–446.
- Kontogianni VG, Tomic G, Nikolic I, Nerantzaki AA, Sayyad N, Stosic-Grujicic S, Tzakos AG (2013) Phytochemical profile of *Rosmarinus officinalis* and *Salvia officinalis* extracts and correlation to their antioxidant and anti-proliferative activity. *Food Chemistry* 136: 120–129.
- Lee J, Jung E, Koh J, Kim YS, Park D (2008) Effect of rosmarinic acid on atopic dermatitis. *Journal of Dermatology* 35: 768–771.
- Leyden JJ, Marples RR, Kligman AM (1974) *Staphylococcus aureus* in the lesions of atopic dermatitis. *British Journal of Dermatology* 90: 525–530.
- Lichterfeld A, Lahmann N, Blume-Peytavi U, Kottner J (2015) Dry skin in nursing care receivers: A multi-centre cross-sectional prevalence study in hospitals and nursing homes. *International Journal of Nursing Studies* 56: 37–44.
- Lim SW, Hong SP, Jeong SW, Kim B, Bak H, Ryoo HC, Ahn SK (2007) Simultaneous effect of ursolic acid and oleanolic acid on epidermal permeability barrier function and epidermal keratinocyte differentiation via peroxisome proliferator-activated receptor- $\alpha$ . *Journal of Dermatology* 34: 625–634.
- Lima CF, Azevedo MF, Araujo R, Fernandes-Ferreira M, Pereira-Wilson C (2006) Metformin-like effect of *Salvia officinalis* (common sage): is it useful in diabetes prevention? *The British Journal of Nutrition* 96: 326–333.
- Lima CF, Carvalho F, Fernandes E, Bastos ML, Santos-Gomes PC, Fernandes-Ferreira M, Pereira-Wilson C (2004) Evaluation of toxic/protective effects of the essential oil of *Salvia officinalis* on freshly isolated rat hepatocytes. *Toxicology in Vitro* 18: 457–465.
- Lodén M (2005) The clinical benefit of moisturizers. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology* 19: 672–688.
- Lodén M, Andersson AC, Andersson C, Frödin T, Öman H, Lindberg M (2001) Instrumental and dermatologist evaluation of the effect of glycerine and urea on dry skin in atopic dermatitis. *Skin Research and Technology* 7: 209–213.
- Löffler H, Effendy I (2002) Hautschutz- oder Hautregenerationscreme? Der Halbseitenversuch in der Bewertung eines hautpflegenden Externums. *Z Hautkr* 238: 234–238.
- Man G, Elias PM, Man MQ (2015) Therapeutic benefits of enhancing permeability barrier for atopic eczema. *Dermatologica Sinica*: 33: 84–89.
- Martínez-González MC, Goday Buján JJ, Martínez Gómez W, Fonseca Capdevila E (2007) Concomitant allergic contact dermatitis due to *Rosmarinus officinalis* (rosemary) and *Thymus vulgaris* (thyme). *Contact Dermatitis* 56: 49–50.
- Mayer, B., Baggio, C. H., Freitas, C. S., dos Santos, A. C., Twardowschy, A., Horst, H.,

- Pizzolatti MG, Micke GA, Heller M, Pereira dos Santos È, Otuki MF, Marques MCA (2009). Gastroprotective constituents of *Salvia officinalis* L. *Fitoterapia*, 80, 421–426.
- Mayer E, Gescheidt-Shoshany H, Weltfreund (2011) Allergic contact dermatitis caused by *Salvia officinalis* extract. *Contact Dermatitis* 64: 237–238.
- Merfort I, Heilmann J, Hagedorn-Leweke U, Lippold BC (1994) In vivo skin penetration studies of camomile flavones. *Die Pharmazie* 49 509–511.
- Millet Y, Jouglard J, Steinmetz MD, Tognetti P, Joanny P, Arditti J (1981) Toxicity of some essential plant oils. Clinical and experimental study. *Clinical Toxicology* 18: 1485–98.
- Miura K, Kikuzaki H, Nakatani N (2002) Antioxidant Activity of Chemical Components from Sage (*Salvia officinalis* L.) and Thyme (*Thymus vulgaris* L.) Measured by the Oil Stability Index Method. *J. Agric. Food Chem.* 50: 1845–1851.
- Moser K, Kriwet K, Naik A, Kalia YN, Guy RH (2001) Passive skin penetration enhancement and its quantification in vitro. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 52: 103–112.
- Nicander I, Norlen L, Forslind B, Ollmar S (1998) Lipid content and electrical impedance. *Curr Probl Dermatol* 26: 165–176.
- Park CM, Song YS (2013) Luteolin and luteolin-7-o-glucoside inhibit lipopolysaccharide-induced inflammatory responses through modulation of NF -  $\kappa$ B/Ap-1/PI3K-AKT signaling cascades in RAW 264.7 cells. *Nutrition Research and Practice* 7: 423–429.
- Pinnagoda J (1990) Guidelines for transepidermal water loss (TEWL) measurement A Report from the Standardization Group of the European Society of Contact Dermatitis. *Contact Dermatitis* 22: 164–178.
- Pinnell, SR (2003) Cutaneous photodamage, oxidative stress, and topical antioxidant protection. *Journal of the American Academy of Dermatology*: 48, 1–19.
- Pons-Guiraud A (2007) Dry skin in dermatology: A complex physiopathology. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology* 21: 1–4.
- Proksch E, Brasch J (2012) Abnormal epidermal barrier in the pathogenesis of contact dermatitis. *Clinics in Dermatology* 30: 335–344.
- Proksch E, Lachapelle JM (2005) The management of dry skin with topical emollients-recent perspectives. *Journal of the German Society of Dermatology* 3: 768–774.
- Ratz-Yko A, Arct J, Majewski S, Pytkowska K (2015) Influence of polyphenols on the physiological processes in the skin. *Phytotherapy Research* 29: 509–517.
- Rau O, Wurglics M, Paulke A, Zitzkowski J, Meindl N, Bock A, Schubert-Zsilavec M (2006) Carnosic acid and carnosol, phenolic diterpene compounds of the labiate herbs rosemary and sage, are activators of the human peroxisome proliferator-activated receptor gamma. *Planta Medica* 72: 881–887.
- Rawlings AV (2003) Trends in stratum corneum research and the management of dry skin conditions. *International Journal of Cosmetic Science* 25: 63–95.
- Rawlings AV, Harding CR (2004) Moisturization and skin barrier function. *Dermatol Ther* 17: 43–48.
- Rawlings AV, Matts PJ (2005) Stratum Corneum Moisturization at the Molecular Level: An update in relation to the dry skin cycle. *Journal of Investigative Dermatology* 124: 1099–1110.
- Reuter J, Jocher A, Hornstein S, Mönting JS, Schempp CM (2007) Sage extract rich in phenolic diterpenes inhibits ultraviolet-induced erythema in vivo. *Planta Medica* 73: 1190–1191.
- Reuter J, Wölfle U, Weckesser A, Schempp CM (2010) Welche Pflanze für welche

- Hauterkrankung? Teil 1: Atopische Dermatitis, Psoriasis, Akne, Kondylome und Herpes simplex. JDDG 8:788–796.
- Rhodes LE, Diffey BL (1997) Fluorescence spectroscopy: a rapid, noninvasive method for measurement of skin surface thickness of topical agents. *British Journal of Dermatology* 136: 12–17.
- Rogiers V, Group E (2001) EEMCO Guidance for the Assessment of Transepidermal Water Loss in Cosmetic Sciences *Skin Pharmacology and Applied Skin Physiology*: 14, 117–128.
- Russo A, Formisano C, Rigano D, Senatore F, Delfino S, Cardile V, Bruno M (2013) Chemical composition and anticancer activity of essential oils of Mediterranean sage (*Salvia officinalis* L.) grown in different environmental conditions. *Food and Chemical Toxicology* 55: 42–47.
- Seelinger G, Merfort I, Schempp CM (2008). Anti-oxidant, anti-inflammatory and anti-allergic activities of luteolin. *Planta Medica* 74: 1667–1677.
- Sertoli A, Fabbri P, PC, Panconesi E (1978) Allergic contact dermatitis to *Salvia Officinalis*, *Inula Viscosa* and *Conyza Bonariensis*. *Contact Dermatitis* 4: 314–315.
- Serup J, Agner T (1990) Colorimetric quantification of erythema - A comparison of two colorimeters (Lange Micro Color and Minolta Chroma Meter CR-200) with a clinical scoring scheme and laser Doppler flowmetry. *Clinical and Experimental Dermatology* 15: 267–272.
- Shahneh FZ, Valiyari S, Baradaran B, Abdolalizadeh J, Bandehagh A, Azadmehr A, Hajiaghache R (2013) Inhibitory and cytotoxic activities of *Salvia officinalis* L. Extract on human lymphoma and leukemia cells by induction of apoptosis. *Advanced Pharmaceutical Bulletin* 3: 51–55.
- Stallings AF, Lupo BMP (2009) Practical Uses of Botanicals in Skin Care. *J Clin Aesthetic Derm* 2: 36–40.
- Thornfeldt C (2005) Cosmeceuticals Containing Herbs: Fact, Fiction, and Future. *Dermatologic Surgery* 31: 873–880.
- Tupker RA, Willis C, Berardksca E, Lee CH, Fartasch M, Atinrat T, Serup J (1997) Guidelines on sodium lauryl sulfate (SLS) exposure tests. A report from the Standardization Group of the European Society of Contact Dermatitis. *Contact Dermatitis* 37: 53–69.
- Ululeben A: Terpenoids in the Genus *Salvia*. In: Kintzios, SE (Ed.): Sage: The Genus *Salvia*. CRC Press, Amsterdam, 2000, pp. 55-68.
- Urbaniak GC, Plous S (2013) Research Randomizer (Version 4.0) [Computer software]. (2013) Retrieved from <http://randomizer.org/>
- Veličković D, Randelović N (2003) Chemical constituents and antimicrobial activity of the ethanol extracts obtained from the flower, leaf and stem of *Salvia officinalis* L. *J.Serb.Chem.Soc* 68: 17–24.
- Vostálová J, Zdarilová A, Svobodová A (2010) *Prunella vulgaris* extract and rosmarinic acid prevent UVB-induced DNA damage and oxidative stress in HaCaT keratinocytes. *Archives of Dermatological Research* 302: 171–181.
- Wickett RR, Visscher MO (2006) Structure and function of the epidermal barrier. *American Journal of Infection Control* 34: 598–510.
- Wohlrab J (2014) Grundlagen der topischen Therapie. *Der Hautarzt* 65: 169–174.
- Wohlrab J, Richter C, Stauder S (2015) Preclinical and clinical characterization of the cutaneous bioavailability of the hydrophilic phase of a water-in-oil emulsion. *JDDG*:. 1–8.

- Wölfle U, Esser PR, Simon-Haarhaus B, Martin SF, Lademann J, Schempp CM (2011) UVB-induced DNA damage, generation of reactive oxygen species, and inflammation are effectively attenuated by the flavonoid luteolin in vitro and in vivo. *Free Radical Biology and Medicine* 50: 1081–1093.
- Woolf AD (2003) Herbal remedies and children: do they work? Are they harmful? *Pediatrics* 112: 240–6.

Aus der Universitätsklinik und Poliklinik für Dermatologie und Venerologie der Medizinischen  
Fakultät an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg  
(Kommissarischer Direktor: apl. Prof. Dr. med. habil. Johannes Wohlrab)

## **Thesen der Dissertation**

# **Der Einfluss von topisch appliziertem Salbeiextrakt (*Salvia officinalis*) auf die Barrierefunktion des Stratum corneum und die Irritation der menschlichen Haut**

Dissertation  
zur Erlangung des akademischen Grades  
Doktor der Medizin (Dr. med.)

vorgelegt  
der Medizinischen Fakultät  
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von Behrend, Jana  
geboren am 16. Oktober 1985 in Berlin

1. Die Funktionsstörung der Hautbarriere geht mit erhöhtem transepidermalen Wasserverlust der Hornschicht einher und führt zu einem verminderten Feuchtigkeitsgehalt der oberen Hautschicht. Der verminderte Feuchtigkeitsgehalt stört das Mikromilieu des Stratum corneum und radikale Sauerstoffspezies können eine lokale Entzündungsreaktion hervorrufen.
2. *Salvia officinalis* L. ist in der traditionellen Volksmedizin als Heilmittel etabliert und wird dort unter anderem gegen Entzündungen eingesetzt. Aktuelle Studiendaten weisen darauf hin, dass Rosmarinsäure und Luteolin-7-glucosid als wichtige Wirkstoffe des Salbeis bei regelmäßiger topischer Applikation zur Restitution der Hautbarriere und zur Verringerung der Irritation der Haut beitragen können.
3. Im Rahmen einer kosmetischen Studie wurde in einem prospektiven randomisierten, doppelblinden, vehikelkontrollierten Design bei 15 gesunden Probanden nach artifizieller Schädigung der Hautbarriere mit SLS (0,5%) über 24 Stunden der Einfluss von hydrophilen und lipophilen salbeiextrakthaltigen Prüfpräparaten auf die Barrierefunktion und auf die Irritation der Hornschicht nach topischer Applikation untersucht.
4. Die Schädigung der Hautbarriere wurde durch die Behandlung mit SLS (0,5%) über 24 Stunden induziert und spiegelt sich in der Steigerung des transepidermalen Wasserverlustes und der Rötung der Haut, sowie in der verringerten Hornschichthydratation wider. Allerdings weisen die erhobenen Messwerte auf eine Inhomogenität der Studienpopulation in Bezug auf die Hautschädigung hin.
5. Der wässrig extrahierte Salbeiextrakt wurde in Konzentrationen von 1%, 4%, 8% in eine hydrophile Grundlage (Vehikel) und in Konzentrationen von 3%, 12%, 25% in eine lipophile Grundlage (Vehikel) eingearbeitet und während des Studienzeitraums alle 12 Stunden auf definierte Hautareale aufgetragen.
6. Als Zielparamester wurden der transepidermale Wasserverlust über die Haut und die Hydratation der Hornschicht als Maß der Barrierefunktion der Hornschicht und die Rötung der Haut als Maß der Irritation mittels nicht-invasiver, etablierter Messmethoden ermittelt.
7. Die topische Applikation der hydrophilen salbeiextrakthaltigen Cremes steigerte den Feuchtigkeitsgehalt der Hornschicht im Vergleich zur unbehandelten Haut signifikant. Diese Wirkung trat bei der Applikation der salbeiextrakthaltigen hydrophilen Prüfpräparate bis zu 24 Stunden früher ein als bei Applikation des hydrophilen Vehikels. Die salbeiextrakthaltigen Prüfpräparate hatten im Studienverlauf keinen konzentrationsabhängigen Effekt, sodass am ehesten ein Vehikeleffekt vorliegt.
8. Die hydrophilen salbeiextrakthaltigen Prüfpräparate und das hydrophile Vehikel bewirkten keine statistisch signifikante Verringerung des transepidermalen Wasserverlustes und der Irritation der Haut.

9. Die lipophilen salbeixtrakthaltigen Prüfpräparate und das lipophile Vehikel vermittelten keinen statistisch signifikanten Effekt auf die Verringerung des transepidermalen Wasserverlustes, die Steigerung der Hornschichthydratation und die Verringerung der Irritation der Haut.
10. Das antioxidative und antiinflammatorische Potential von *Salvia officinalis* L. wurde in der Studie nicht widerlegt. In Folgestudien können eine größere Studienpopulation und eine höhere Konzentration der Wirkstoffe des Salbeis eindeutiger Ergebnisse erbringen.

# Lebenslauf

## Persönliche Angaben

Name	Jana Behrend
Geboren	16.10.1985
Geburtsort	Berlin
Anschrift	Adam-Kuckhoff-Str. 25a, 06108 Halle

## Schulbildung

1998-2005	Goethe-Oberschule (Gymnasium) Berlin
06/2005	Erlangen der Allgemeinen Hochschulreife

## Ausbildung

2005-2008	Ausbildung zur Gesundheits- und Krankenpflegerin an der Wannsee-Schule für Gesundheitsberufe e.V. in Berlin
01/2008-02/2008	Wahleinsatz im Rahmen der Ausbildung im „Bombay Leprosy Project“, Mumbai, India
09/2008	Abschluss: Gesundheits- und Krankenpflegerin

## Berufstätigkeit

01/2009-03/2010	Gesundheits- und Krankenpflegerin im Krankenhaus Waldfriede, e.V., Berlin
-----------------	---

## Studium

Seit 2009-aktuell	Humanmedizin an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
09/2012	Erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung
10/2015	Zweiter Abschnitt der ärztlichen Prüfung
11/2015-12/2015	Hospitation im „Attat-Hospital“, Welkite, Gurage Zone, Äthiopien
01/2016-05/2016	Arbeit an der Promotion
seit 2016-aktuell	Praktisches Jahr: - Chirurgie, Krankenhaus Martha-Maria, Halle - Innere Medizin, BG-Kliniken Bergmannstrost, Halle - Anästhesiologie, Diakoniekrankenhaus, Halle

## **Selbständigkeitserklärung**

Ich, Jana Behrend, erkläre ehrenwörtlich, dass ich die der Medizinischen Fakultät der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel

„Der Einfluss von topisch appliziertem Salbeiextrakt (*Salvia officinalis*) auf die Barrierefunktion des Stratum corneum und die Irritation der menschlichen Haut“

unter der Leitung von apl. Prof. Dr. med. habil. Johannes Wohlrab selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertationsschrift aufgeführten Hilfsmittel benutzt habe. Die aus anderen Quellen direkt oder indirekt übernommenen Daten und Konzepte sind unter Angabe der Quelle gekennzeichnet. Die Regeln zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis wurden beachtet (Amtsblatt der MLU Nr. 5, 02.07.09).

Ich versichere, dass ich für die inhaltliche Erstellung der vorliegenden Arbeit nicht die entgeltliche Hilfe von Vermittlungs- und Beratungsdiensten (Promotionsberater oder andere Personen) in Anspruch genommen habe. Niemand hat von mir unmittelbar oder mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen.

---

(Ort, Datum)

---

Jana Behrend

## **Erklärung über frühere Promotionen**

Ich habe bisher an keiner in- oder ausländischen Universität ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht, noch die vorliegende oder eine andere Arbeit als Dissertationsschrift vorgelegt.

---

(Ort, Datum)

---

Jana Behrend

## **Hinweise auf Publikationen von Ergebnissen dieser Arbeit**

Teile der Ergebnisse dieser Arbeit wurden im Rahmen einer Posterpräsentation auf der Jahrestagung der Norddeutschen Dermatologischen Gesellschaft in Hamburg vom 16.-18.09.2016 präsentiert.

Behrend, J. & Wohlrab, J. 2016., Effekte von topisch appliziertem Salbeiextrakt auf die Barriererestitution des Stratum corneums, Poster. JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft, 14: 7–16. doi:10.1111/ddg.13122

## **Danksagung**

Mein besonderer Dank gilt meinem Betreuer, Herrn Professor Dr. Johannes Wohlrab, der mir durch die Überlassung des interessanten Themas die Durchführung dieser Dissertation an der Universitäts- und Poliklinik für Dermatologie und Venerologie ermöglicht hat. Mein herzlicher Dank gilt ihm außerdem für seine wissenschaftliche Anleitung, seinen Rat und die konstruktive Begleitung meiner Arbeit.

Bei der Studienkoordinatorin Frau Andrea Stennett bedanke ich mich für die Hilfe bei der Durchführung der Studie und für die freundliche und stets unkomplizierte Zusammenarbeit.

Herrn Prof. Dr. Dr. Reinhard Neubert vom Institut für pharmazeutische Technologie und Biopharmazie der Martin-Luther-Universität Halle- Wittenberg danke ich für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung.

Außerdem gilt mein Dank den Probanden, die sich freiwillig für diese Studie zur Verfügung gestellt und zuverlässig an den Messungen teilgenommen haben.

Nicht zuletzt gilt mein besonderer Dank meiner Familie, die mich vor und während des Studiums stets unterstützt hat und mir diesen Weg dadurch erst ermöglichten. Meinen Freunden danke ich für den moralischen Beistand; vor allem Hania und Franziska danke ich für ihre wertvollen Anregungen. Insbesondere meinem Freund Florian möchte ich für die treue Unterstützung und den stets geduldigen Zuspruch danken, auf den ich mich nicht nur während der Entstehung der Dissertation verlassen konnte.