

7 Zusammenfassung

Es wurden kosmetisch wirksame Leitsubstanzen in Pflanzenextrakten mit Hilfe der direkten Kopplung der Flüssigchromatographie mit einem Massenspektrometer (LC/MS) untersucht. Mit der Zielsetzung einer möglichen Steigerung der Hautpflegeleistung kosmetischer Mittel durch Zusatz von Pflanzenextrakten ist u. a. eine Charakterisierung der pflanzlichen Rohstoffe erforderlich. Neben der Charakterisierung der Pflanzenextrakte wurden Studien zur Lagerstabilität und zum in vitro Penetrationsverhalten in die Haut der Pflanzenextrakte durchgeführt.

Im einzelnen wurden Extrakte aus *Camellia sinensis* (Grüner Tee), *Calendula officinalis* (Ringelblume), *Glycyrrhiza glabra* (Süßholz), *Terminalia sericea* (Gelbholz) und *Echinacea purpurea* (Sonnenhut) untersucht. Zunächst wurden isolierte Leitsubstanzen der Pflanzenextrakte mit Hilfe massenspektrometrischer Fragmentierungsexperimente und NMR-spektroskopischer Untersuchungen charakterisiert. Zur qualitativen und quantitativen Bestimmung der pflanzlichen Leitsubstanzen wurden dann empfindliche und selektive Analysenverfahren mittels LC/MS entwickelt. Die Verwendung von polaren Lösungsmitteln bei der *reversed-phase* Chromatographie stabilisiert die Elektrospray-Ionisierung der Leitsubstanzen und ermöglicht eine Messempfindlichkeit, die eine direkte Bestimmung der Pflanzenextrakte in kosmetischen Formulierungen und Hautextrakten erlaubt. Eine aufwändige Probenvorbereitung ist nicht erforderlich.

Der Gehalt an Wirkstoffen ist ein wichtiger Parameter für die Qualität eines Pflanzenextraktes. Für den Einsatz in kosmetischen Mitteln sind neben dem Wirkstoffgehalt aber auch anderen Faktoren wie z. B. die in vivo und in vitro Wirksamkeit, Stabilität, Toxizität, Geruch und Löslichkeit von Bedeutung. Die Zusammensetzung der untersuchten Pflanzenextrakte variierte trotz gleicher INCI (*international nomenclature of cosmetic ingredients*)-Bezeichnung stark. Je nach verwendetem Pflanzenteil, Extraktionsmittel und Herstellungsverfahren zeigten die Pflanzenextrakte in ihren Gehalten an Leitsubstanzen starke Schwankungen. Während in einigen Extrakten die Leitsubstanzen nicht nachgewiesen werden konnten, betrug der Wirkstoffgehalt in anderen Extrakten zum Teil über 50 % der Trockenmasse. Anhand verschiedener Chargen eines Grüntee-Extraktes konnte gezeigt werden, dass neben

dem Herstellungsverfahren auch Faktoren wie z. B. Erntezeitpunkt sowie Ernte- und Lagerbedingungen einen Einfluss auf den Wirkstoffgehalt haben. Es wurde aufgrund der hohen Schwankungen an wirksamen Inhaltsstoffen gezeigt, dass vor der Herstellung kosmetischer Mittel eine Charakterisierung nicht standardisierter pflanzlicher Rohstoffe erforderlich ist.

Zur Untersuchung der Stabilität der Leitsubstanzen in kosmetischen Formulierungen wurden Emulsionen unter Zusatz der Pflanzenextrakte bis zu 6 Monate unter definierten Bedingungen gelagert und innerhalb bestimmter Intervalle mit den entwickelten LC/MS Methoden analysiert. Die in Grüntee-Extrakten antioxidativ wirksamen Catechine unterlagen während der Lagerung einem starken Abbau in den nicht stabilisierten Emulsionen, so dass nach 6 monatiger Lagerung bei +40 °C nur noch Spuren der Catechine nachweisbar waren. Durch Zusatz von 0,2 % Ascorbinsäure konnte die Stabilität der Grüntee-Catechine in Emulsionen soweit verbessert werden, dass nach 6 Monaten bei +40 °C Wiederfindungsraten von 40 bis 60 % erhalten wurden. Die in den Extrakten aus der *Calendula officinalis*, *Glycyrrhiza glabra* und *Terminalia sericea* für die entzündungshemmende und antiirritative Wirkung verantwortlichen Triterpenoide zeigen eine gute Stabilität während der Lagerung der kosmetischen Formulierungen. Lediglich unter Einfluss von Sonnenlicht unterlagen die Leitsubstanzen aus dem *Calendula officinalis*-Extrakt einem Abbau. Dieser Abbau konnte jedoch durch Zusatz von Antioxidantien verringert werden. Bei der in *Echinacea purpurea*-Extrakten kosmetisch wirksamen Cichoriensäure wurde ein Abbau während der Lagerung nachgewiesen, der zu Wiederfindungsraten von 70 bis 80 % nach 6 monatiger Lagerung bei +40 °C führte.

Mit Hilfe der *in vitro* Penetrationsstudien konnte gezeigt werden, dass die Wirkstoffe der Pflanzenextrakte in der Haut durch die Hornschicht in tiefere Schichten der Epidermis und zum Teil auch in die Dermis penetrieren. Weiterhin geben die durchgeführten Studien keine Hinweise auf eine systemische Wirkung der Pflanzenextrakte. Aus toxikologischer und pharmakologischer Sicht gibt es bezüglich dieser Testergebnisse keine Einschränkungen für den Einsatz der Pflanzenextrakte in kosmetischen Mitteln.

8 Summary

Cosmetically active principal components of plant extracts were studied by means of direct coupling of liquid chromatography with a mass spectrometer (LC/MS). Before plant extracts can be added to cosmetic preparations to possibly improve their skin-care performance, the plant raw materials first need to be characterized. In addition to characterizing the plant extracts, studies on the storage stability and *in vitro* penetration into the skin of plant extracts were performed.

Studied were extracts from *Camellia sinensis* (green tea), *Calendula officinalis* (marigold), *Glycyrrhiza glabra* (liquorice), *Terminalia sericea* (yellowwood) and *Echinacea purpurea* (purple coneflower). First the isolated active principal components of the plant extracts were characterized by means of mass spectrometric fragmentation experiments and NMR spectroscopic studies. Then sensitive and selective LC/MS methods were used for the qualitative and quantitative analysis of the plant active principal components. The use of polar solvents in reversed-phase chromatography stabilizes electrospray ionization of the principal components and enables a measuring sensitivity that permits a direct analysis of the plant extracts in cosmetic formulations and skin extracts. No time-consuming sample preparation is required.

The content of active substances is an important parameter for the quality of a plant extract. For their use in cosmetic preparations, however, other factors besides the active substance content are important such as the *in vivo* and *in vitro* efficacy, stability, toxicity, odor and solubility. The composition of the plant extracts studied varied considerably despite the same INCI (*international nomenclature of cosmetic ingredients*) name. The content of active principal components in the plant extracts varied strongly depending of the part of the plant, solvent and production process used. While the active principal components could not be detected in some extracts, in others the active substance content sometimes comprised more than 50 % of dry weight. Analysis of several batches of a green tea extract showed that other factors besides the production process, such as the date of harvest as well as the harvest and storage conditions, have an influence on the active substance content. It could be shown on the basis of large variations in active ingredients that it is necessary to

characterize non-standardized plant raw materials prior to the production of cosmetic preparations.

To study the stability of the principal components in cosmetic formulations, emulsions to which plant extracts had been added were stored under defined conditions for up to 6 months and analyzed at given intervals with the LC/MS methods developed. Degradation of the antioxidant catechins in green tea extracts was considerable in unstabilized emulsions during storage, so that after 6 months of storage at +40 °C just traces of catechins were detectable. After addition of 0.2 % ascorbic acid the stability of the green tea catechins improved so much that after 6 months at +40 °C a recovery rate of 40 to 60 % was obtained. The triterpenoids in the extracts from *Calendula officinalis*, *glycyrrhiza glabra* and *Terminalia sericea* responsible for the anti-inflammatory and anti-irritant effect show a good stability during storage of cosmetic formulations. The active principal components of the *Calendula officinalis* extract showed degradation only under the influence of sunlight. This degradation could, however, be reduced by addition of antioxidants. The cosmetically active cichoric acid in *Echinacea purpurea* extracts showed degradation during storage leading to recovery rates of 70 to 80 % after 6 months of storage at +40 °C.

It could be shown by means of in vitro penetration studies that active components of plant extracts in the skin penetrate through the horny layer into deeper layers of the epidermis and sometimes even into the dermis, but no evidence for a systemic effect of the plant extracts was obtained. Based on these test results, there is no need to restrict the use of plant extracts in cosmetic preparation from a toxicological or pharmacological standpoint.