



Klinik für Hautkrankheiten

Qualitäts-zertifiziert nach DIN EN ISO 9001:2008

Universitätsklinikum Jena · Klinik für Hautkrankheiten · Erfurter Str. 35 · 07743 Jena

smartfiber AG

Anita Varga

Breitscheidstraße 154

D-07407 Rudolstadt

Erfurter Straße 35  
07743 Jena

Direktor: Prof. Dr. med. P. Elsner

**Labor für In-vitro-Forschung und  
Routinediagnostik**

Laborleiter:  
**PD Dr. Uta-Christina Hippler**  
Telefon 03641 93 73 31  
Telefax 03641 93 74 37

Ansprechpartner:  
**Dr. Cornelia Wiegand**  
Telefon 03641 93 75 84  
Telefax 03641 93 74 37

web: <http://www.derma.uni-jena.de>

28. Juli 2014

**Studienbericht:**

**Untersuchung der antioxidativen Wirksamkeit  
der Textilprobe „SeaCell®“ (# 14 07 085) im  
Vergleich zu Baumwolle (# 14 07 086)  
*in vitro***


Index

|  | <b>Seite</b> |
|--|--------------|
| 1. Qualitätszertifikat   | 3            |
| 2. Generelles  |              |
| 2.1 Proben   | 4            |
| 2.2 Referenzmaterial   | 4            |
| 2.3 Auftraggeber   | 4            |
| 2.4 Prüfeinrichtung  | 4            |
| 2.5 Durchführungszeitraum  | 4            |
| 3. GLP und Qualitätssicherung  | 5            |
| 4. Zusammenfassung   | 5            |
| 5. Hintergrund   | 6            |
| 6. Material und Methoden   |              |
| 6.1 Vorbereitung der Proben  | 7            |
| 6.2 Bestimmung der antioxidativen Kapazität der Probe mittels ROS-Test | 7            |
| 6.3 Bestimmung der antioxidativen Kapazität der Probe mittels RNS-Test | 8            |
| 6.4 Statistik  | 8            |
| 7. Abweichungen vom Studienprotokoll                                   | 9            |
| 8. Dokumentation   | 9            |
| 9. Ergebnisse und Diskussion   | 10           |
| 10. Appendix   |              |
| 10.1 Abkürzungsverzeichnis   | 11           |
| 10.2 Tabellen und Abbildungen  | 12           |
| 10.3 Literatur   | 13           |
| 10.4 Messdaten   | 14           |

**CONFIDENTIAL – VERTRAULICH**
**Studienbericht**

Untersuchung der antioxidativen Wirksamkeit von Textilprobe „SeaCell®“ (# 14 07 085) im Vergleich zu Baumwolle (# 14 07 086) *in vitro*



1. Qualitätszertifikat



# Zertifikat

## QUALITÄTSMANAGEMENTSYSTEM – DIN EN ISO 9001: 2008

Hiermit wird bestätigt, dass das

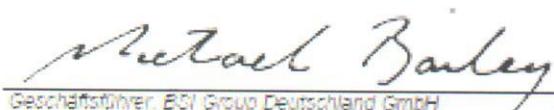
Universitätsklinikum Jena  
Klinik für Hautkrankheiten  
Erfurter Straße 35  
07740 Jena  
Deutschland

Inhaber des Zertifikates Nr. FG 519135/5409D

ein Qualitätsmanagementsystem gemäß DIN EN ISO 9001:2008 für den folgenden Geltungsbereich anwendet:

Dermatologie, Allergologie, Berufsdermatologie, Andrologie, Dermato-Histologie, Dermato-Onkologie, Hautphysiologie/Skin Study Center, Forschungslabor, Diagnostisches Labor, Operative Dermatologie, Laser, Photodermatologie, Proktologie, Phlebologie, Wundheilung, Trichologie, Venerologie, Kinderdermatologie

Für und im Namen von BSI:

  
Michael Bailey  
Geschäftsführer, BSI Group Deutschland GmbH

Ursprünglich zertifiziert: 12.12.2003 Letzte Ausgabe: 10.10.2012

Ablaufdatum: 16.10.2015

Seite: 1 von 1



Dieses Zertifikat wurde elektronisch erzeugt und bleibt Eigentum der BSI und ist an die Vertragbedingungen gebunden.  
Ein elektronisches Zertifikat kann online bestätigt werden.  
Kopien können auf [www.bsigroup.de/de/Audit-und-Zertifizierung/Kundenverzeichnis](http://www.bsigroup.de/de/Audit-und-Zertifizierung/Kundenverzeichnis) oder per Telefon +49 (0)69 2020-09-200  
bestätigt werden.  
Information und Kontakt: BSI (EMEA) Zentrale: 289 Chiswick High Road, London, W4 4AL, United Kingdom  
Ein Mitglied der BSI Unternehmensgruppe

**CONFIDENTIAL – VERTRAULICH**

Studienbericht

Untersuchung der antioxidativen Wirksamkeit von Textilprobe „SeaCell®“ (# 14 07 085) im Vergleich zu Baumwolle (# 14 07 086) *in vitro*



## 2. Generelles

### 2.1 Proben

Textilprobe „SeaCell®“ (# 14 07 085)

### 2.2 Referenzmaterial

Referenzprobe Baumwolle (#14 07 086)

### 2.3 Auftraggeber

smartfiber AG  
Breitscheidstraße 154  
D-07407 Rudolstadt  
Ansprechpartner: Anita Varga

### 2.4 Prüfeinrichtung

Klinik für Hautkrankheiten  
Universitätsklinikum Jena  
Erfurter Straße 35  
D-07740 Jena  
Studienleiter: PD Dr. Uta-Christina Hipler

### 2.5 Durchführungszeitraum

Start: 17.07.2014

Ende: 24.07.2014

Fälligkeit des Berichts: 28.07.2014

**CONFIDENTIAL – VERTRAULICH**

Studienbericht

Untersuchung der antioxidativen Wirksamkeit von Textilprobe „SeaCell®“ (# 14 07 085) im Vergleich zu Baumwolle (# 14 07 086) *in vitro*



### 3. GLP und Qualitätssicherung

Ich versichere, dass die Prüfeinrichtung entsprechend der "Principles of Good Laboratory Practice" arbeitet und technisch validierte Standard Operating Procedures für die beschriebenen Testmethoden vorliegen. Die Prüfeinrichtung ist nach DIN EN ISO 9001:2008 zertifiziert.

28.07.2014

**PD Dr. U.-C. Hippler**

Laborleiterin

Klinik für Hautkrankheiten

Erfurter Str. 35, D-07740 Jena

Tel.: 03641 / 9-37355

Christina.Hippler@med.uni-jena.de

A handwritten signature in blue ink that appears to read "Hippler".

Datum

Studienleiter: PD Dr. Uta-Christina Hippler

### 4. Zusammenfassung

Das Ziel der Studie war die Untersuchung der antioxidativen Kapazität gegen freie Radikale (ROS – reactive oxygen species, RNS – reactive nitrogen species) *in vitro*.

Es konnte gezeigt werden, dass die Textilprobe „SeaCell®“ (# 17 07 085) eine hochsignifikante antioxidative Kapazität *in vitro* aufweist. Es wurde eine vergleichbare Hemmung von ROS und RNS erzielt. Die gefundene antioxidative Wirkung war deutlich höher als die der Referenzprobe Baumwolle (# 17 07 086).

**CONFIDENTIAL – VERTRAULICH**

Studienbericht

Untersuchung der antioxidativen Wirksamkeit von Textilprobe „SeaCell®“ (# 14 07 085) im Vergleich zu Baumwolle (# 14 07 086) *in vitro*



## 5. Hintergrund

Die Haut stellt die Schnittstelle zwischen unserem Körper und der Umwelt dar. Sie ist funktionell das vielseitigste Organ des menschlichen Organismus und erfüllt unterschiedliche Aufgaben. Sie dient der Abgrenzung nach Außen, dem Erhalt der Homöostase, dem Schutz vor Umwelteinflüssen und ist an Stoffwechselprozessen und immunologischen Vorgängen beteiligt. Oxidativer Stress durch freie Radikale (ROS, reactive oxygen species; RNS, reactive nitrogen species) beschleunigt die Hautalterung und wurde in Zusammenhang mit Hauterkrankungen wie z.B. Atopischer Dermatitis gebracht [Sezer et al. 2007, Briganti & Picardo 2003]. Da UV-Licht die Generierung von freien Radikalen in den Zellen verstärkt, wird der Einsatz von topischen Antioxidantien empfohlen [Masaki 2010, Maela-Azulay & Bagatin 2009]. Darüber hinaus hat unsere Kleidung hat den längsten und engsten Kontakt mit unserer Haut. Im klinischen und kosmetischen Bereich werden daher Textilien bereits in vielfältiger Weise genutzt. Ein Anwendungsgebiet ist z.B. die Verknüpfung von Antioxidantien und Textilien.

Die antioxidative Kapazität (AOC, antioxidant capacity) von löslichen Substanzen und anderen Materialen, wie z.B. Textilien, kann mittels *in vitro* Tests erfasst und quantifiziert werden. Die verschiedenen Methoden beruhen auf unterschiedlichen Reaktionsmechanismen und verwenden unterschiedliche Radikale und Substrate. Peroxylradikale (ROO<sup>·</sup>) sind die am häufigsten verwendeten Radikale in *in-vitro*-Verfahren, da sie einerseits das Schlüssel-Radikal für die Autoxidation (Lipid Peroxidation) darstellen [Ou et al. 2001]. So erfasst der ROS-(reactive oxygen species)-Test die Inhibierung der Oxidation von Pholasin<sup>®</sup> durch Superoxidanionen und anderen Sauerstoffradikalen. Demgegenüber misst der RNS-(reactive nitrogen species)-Test die Wirksamkeit eines Antioxidans, die Oxidation von Pholasin<sup>®</sup> durch Peroxynitrit (ONOO<sup>·</sup>) zu hemmen. Pholasin<sup>®</sup> ist ein Photoprotein der Bohrmuschel Pholas dactylus, dass nach Oxidation in der Lage ist, Licht zu emittieren (Chemilumineszenz). Diese Eigenschaften konnten bereits in vielfältiger Weise genutzt werden, um die antioxidative Wirksamkeit von Wundverbänden [Wiegand et al. 2009, Wiegand et al. 2006, Schönfelder et al. 2005] und Textilien [Hipler & Wiegand 2011, Wiegand et al. 2010, Fluhr et al. 2010] nachzuweisen.

**CONFIDENTIAL – VERTRAULICH**

Studienbericht

Untersuchung der antioxidativen Wirksamkeit von Textilprobe „SeaCell<sup>®</sup>“ (# 14 07 085) im Vergleich zu Baumwolle (# 14 07 086) *in vitro*



## 6. Material und Methoden

### 6.1 Vorbereitung der Proben

Für die Untersuchung der antioxidativen Kapazität wurden aus den zu testenden Stoffproben mittels 8 mm und 5 mm Biopsie-Stanzen (Stiefel Laboratorium GmbH, Germany) Stücke einheitlicher Größe (0,5 cm<sup>2</sup> bzw. 0,25 cm<sup>2</sup>) ausgestanzt und in weiße 96-Well-Mikrotiterplatten (greiner bio-one, Germany) überführt.

### 6.2 Bestimmung der antioxidativen Kapazität der Proben mittels ROS-Test

Die Bestimmung der antioxidativen Wirkung gegenüber freien Radikalen, wie dem Superoxidanion (reactive oxygen species, ROS), erfolgte mit dem ABEL<sup>®</sup> Antioxidant Test Kit mit Pholasin<sup>®</sup> für Superoxid und andere freie Radikale (Knight Scientific Limited, UK). Superoxid wird im Test aus den Lösungen A und B freigesetzt. Die zu testenden Stoffproben in der 96-Well-Mikrotiterplatte wurden mit 25 µL Puffer (Lot. GA251A B1 120809) und 100 µL Lösung A (Lot. JA511A A1 130422) versetzt. Anschließend wurden 50 µL Pholasin-Lösung (Lot. AA170A B1 110428) pro Well zugegeben. Nach automatischer Injektion von 25 µL Lösung B (Lot. KA611A B3 110912) erfolgte die Messung der Chemolumineszenz im Mikroplattenluminometer LUMIstar Galaxy (BMG LabTechnologies GmbH, Germany).

Die antioxidative Wirkung einer Substanz wird als prozentuale Reduzierung der Peakintensität im Vergleich zu den Kontrollen ohne Probe ausgedrückt.

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{[(\text{peak-Kontrolle}) - (\text{peak-Probe})] \times 100}{(\text{peak-Kontrolle})}$$

**CONFIDENTIAL – VERTRAULICH**

Studienbericht

Untersuchung der antioxidativen Wirksamkeit von Textilprobe „SeaCell<sup>®</sup>“ (# 14 07 085) im Vergleich zu Baumwolle (# 14 07 086) *in vitro*



### 6.3 Bestimmung der antioxidativen Kapazität der Proben mittels RNS-Test

Die Bestimmung der antioxidativen Wirkung gegenüber Peroxynitrit (reactive nitrogen species, RNS) erfolgte mit dem ABEL® Antioxidant Test Kit mit Pholasin® für Peroxynitrit (Knight Scientific Limited, UK). Peroxynitrit entsteht während der Reaktion von Superoxid mit Stickstoffoxid. Die beiden Reaktanden werden aus einer 2,5 mM SIN-1-Lösung (3-Morpholino-syndnonimin HCl) freigesetzt. Die zu testenden Stoffproben in der 96-Well-Mikrotiterplatte wurden mit 100 µL Puffer (Lot. TA 508A B2 120416) versetzt und 50 µL Pholasin-Lösung (Lot. AA 170A A2 130520) pro Well zugegeben. Nach automatischer Injektion von 50 µL SIN-1-Lösung (Lot. UB712B 120330) erfolgte die Messung der Chemolumineszenz im Mikroplattenluminometer LUMIstar Galaxy (BMG LabTechnologies GmbH, Deutschland).

Die antioxidative Wirkung einer Substanz wird als prozentuale Reduzierung der Peakintensität im Vergleich zu den Kontrollen ohne Probe ausgedrückt.

$$\% \text{ Inhibierung} = \frac{[(\text{peak-Kontrolle}) - (\text{peak-Probe})] \times 100}{(\text{peak-Kontrolle})}$$

### 6.4 Statistik

Alle Versuche wurden in zwei unabhängigen Ansätzen durchgeführt. Die einzelnen Messungen erfolgen in Dreifachbestimmungen. Angeben sind die Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung. Die statistische Auswertung der Messwerte erfolgte auf der Basis des Students-T-Test (Microsoft® Excel SP2). Als statistisch signifikant wurden Werte von  $p < 0,05$  bewertet. Statistisch signifikante Ergebnisse wurden durch Sternsymbolik gekennzeichnet: [\*\*\*]  $p \leq 0,001$ ; [\*\*]  $p \leq 0,01$ ; [\*]  $p \leq 0,05$ .

**CONFIDENTIAL – VERTRAULICH**

Studienbericht

Untersuchung der antioxidativen Wirksamkeit von Textilprobe „SeaCell®“ (# 14 07 085) im Vergleich zu Baumwolle (# 14 07 086) *in vitro*



## 7. Abweichungen vom Studienprotokoll

Es gab keine Abweichungen vom Studienprotokoll.

## 8. Dokumentation

Entsprechend der GLP Vorschriften werden die folgenden Akten und Daten im Archiv der Klinik für Hautkrankheiten am Universitätsklinikum Jena aufbewahrt:

Eine Kopie des Studienberichtes und das Studienprotokoll sowie die Rohdaten, die während der Studie generiert wurden, werden mindestens für 4 Jahre nach Abschluss der Studie aufbewahrt.

Nicht verwendete Proben und Referenzmaterialien werden mindestens für 12 Monate nach Abschluss der Studie aufbewahrt und danach vernichtet. Materialien und Proben, die über diesen Zeitraum nicht stabil sind, können vor diesem Zeitpunkt ohne die vorherige Zustimmung des Auftraggebers vernichtet werden.

Unterlagen und Berichte zu Wartung und Kalibrierung von Geräten, Validierungen für rechnergestützte Systeme und die Akten der Operating Procedures (SOPs) werden entsprechend der behördlichen Vorschriften aufbewahrt.

**CONFIDENTIAL – VERTRAULICH**

Studienbericht

Untersuchung der antioxidativen Wirksamkeit von Textilprobe „SeaCell®“ (# 14 07 085) im Vergleich zu Baumwolle (# 14 07 086) *in vitro*

## 9. Ergebnisse und Diskussion

Die Textilprobe „SeaCell®“ (# 17 07 085) war in der Lage die Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) signifikant und konzentrationsabhängig zu inhibieren (Abbildung 1). Darüber hinaus wurde für die Textilprobe „SeaCell®“ (# 17 07 085) ebenfalls eine signifikante Reduktion der Bildung von reaktiven Stickstoffspezies (RNS) beobachtet (Abbildung 2). Die Referenzprobe Baumwolle (# 17 07 086) erzielte eine signifikante antioxidative Wirkung gegen ROS aber nur eine leichte Hemmung von RNS. Es wurde ein signifikanter Unterschied zwischen der Textilprobe „SeaCell®“ (# 17 07 085) und der Referenzprobe gefunden ( $p < 0,001$ ).

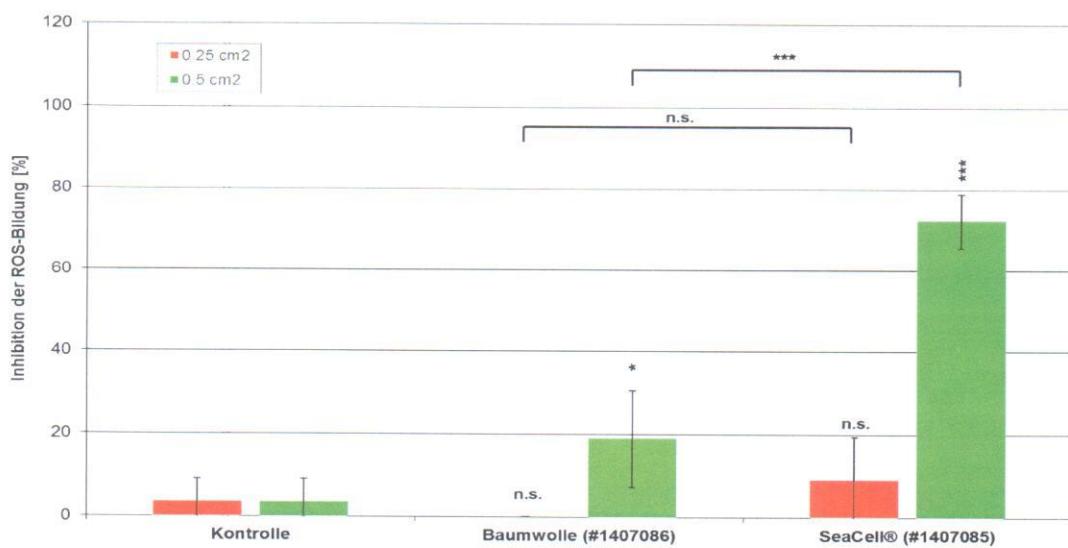


Abbildung 1: Inhibition der ROS-Bildung (Messdaten siehe Tabelle 1 im Appendix).

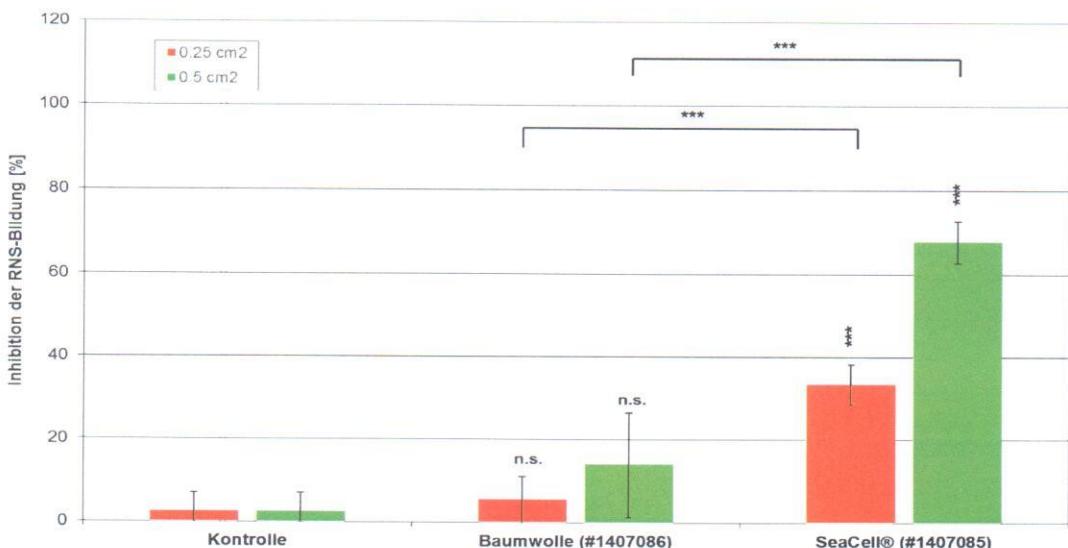


Abbildung 2: Inhibition der RNS-Bildung (Messdaten siehe Tabelle 2 im Appendix).

**CONFIDENTIAL – VERTRAULICH**

Studienbericht

Untersuchung der antioxidativen Wirksamkeit von Textilprobe „SeaCell®“ (# 14 07 085) im Vergleich zu Baumwolle (# 14 07 086) *in vitro*



## 10. Appendix

### 10.1 Abkürzungsverzeichnis

|                 |                           |
|-----------------|---------------------------|
| cm <sup>2</sup> | Quadratzentimeter         |
| M               | Molar                     |
| mL              | Milliliter                |
| µL              | Mikroliter                |
| mm              | Millimeter                |
| mM              | Millimolar                |
| MW              | Mittelwert                |
| n.s.            | nicht signifikant         |
| RNS             | reactive nitrogen species |
| ROS             | reactive oxygen species   |
| SD              | Standardabweichung        |

**CONFIDENTIAL – VERTRAULICH**

Studienbericht

Untersuchung der antioxidativen Wirksamkeit von Textilprobe „SeaCell®“ (# 14 07 085) im Vergleich zu Baumwolle (# 14 07 086) *in vitro*



10.2 Tabellen und Abbildungen

|   | Seite |
|---|-------|
| <b>Abbildung 1:</b> Inhibition der ROS-Bildung. | 10    |
| <b>Abbildung 2:</b> Inhibition der RNS-Bildung. | 10    |
| <br>  |       |
| <b>Tabelle 1:</b> Inhibition der ROS-Bildung.   | 14    |
| <b>Tabelle 2:</b> Inhibition der RNS-Bildung.   | 14    |

**CONFIDENTIAL – VERTRAULICH**

Studienbericht

Untersuchung der antioxidativen Wirksamkeit von Textilprobe „SeaCell®“ (# 14 07 085) im Vergleich zu Baumwolle (# 14 07 086) *in vitro*



### 10.3 Literatur

- Briganti S, Picardo M.** JEADV 2003; 17:663-9
- Fluhr JW, Breternitz M, Kowatzki D, Bauer A, Bossert J, Elsner P, Hipler UC.** Exp Dermatol 2010; 19:e9-15
- Manela-Azulay M, Bagatin E.** Clinics Dermatol 2009; 27:469-474
- Masaki H.** J Dermatol Sci 2010; 58:85-90
- Ou BX, Hampsch-Woodill M, Prior RL.** J Agricultur Food Chem 2001; 49:4619-26
- Schönfelder U, Abel M, Wiegand C, Klemm D, Elsner P, Hipler U-C.** Biomaterials 2005; 26: 6664-6673
- Sezer E, Ozugurlu F, Ozyurt H, Sahin S, Etikan I.** Clin Exp Dermatol 2007; 32:430-4
- Wiegand C, Elsner P, Hipler UC, Klemm D.** Cellulose 2006; 13:689-696
- Wiegand C, Heinze T, Hipler UC.** Wound Rep Reg 2009; 17:511-521
- Wiegand C, Fluhr JW, Elsner P, Hipler UC.** in Cellulose: Structure and properties, derivatives and industrial uses, eds. A. Lejeune & T. Deprez, Nova Science Publishers, 2010



## 10.4 Messdaten

**Tabelle 1:** Inhibition der ROS-Bildung.

|   | Probengröße        | 0.25 cm <sup>2</sup> | 0.5 cm <sup>2</sup> |
|---|--------------------|----------------------|---------------------|
| Kontrolle   | [%]                | 0,00                 | 0,00                |
|   |                    | 0,00                 | 0,00                |
|   |                    | 6,43                 | 6,43                |
|   |                    | 0,00                 | 0,00                |
|   |                    | 0,00                 | 0,00                |
|   |                    | 13,89                | 13,89               |
|   | Mittelwert         | 3,4                  | 3,4                 |
| Referenzprobe<br>Baumwolle<br>(# 14 07 086)           | [%]                | 5,8                  | 5,8                 |
|   |                    | 0,00                 | 5,54                |
|   |                    | 0,00                 | 28,72               |
|   |                    | 0,00                 | 15,66               |
|   |                    | 0,00                 | 15,53               |
|   |                    | 0,00                 | 11,21               |
|   |                    | 0,00                 | 36,75               |
| Textilprobe<br>„SeaCell <sup>®</sup><br>(# 14 07 085) | [%]                | Mittelwert           | 0,0                 |
|   |                    | SD                   | 18,9                |
|   |                    | p-Wert (Kontrolle)   | 0,0                 |
|   |                    | 0,0                  | 11,6                |
|   |                    | 0,1798               | 0,0150              |
|   |                    | 23,54                | 67,29               |
|   |                    | 0,00                 | 69,94               |
|   | Mittelwert         | 10,63                | 62,52               |
|   | SD                 | 0,00                 | 76,58               |
|   | p-Wert (Kontrolle) | 19,16                | 78,11               |
|   |                    | 0,00                 | 78,73               |
|   | Mittelwert         | 8,9                  | 72,2                |
|   | SD                 | 10,6                 | 6,6                 |
|   | p-Wert (Kontrolle) | 0,2896               | 0,0001              |

**Tabelle 2:** Inhibition der RNS-Bildung.

|   | Probengröße        | 0.25 cm <sup>2</sup> | 0.5 cm <sup>2</sup> |
|---|--------------------|----------------------|---------------------|
| Kontrolle   | [%]                | 0,00                 | 0,00                |
|   |                    | 0,00                 | 0,00                |
|   |                    | 12,71                | 12,71               |
|   |                    | 1,36                 | 1,36                |
|   |                    | 0,00                 | 0,00                |
|   |                    | 0,00                 | 0,00                |
|   | Mittelwert         | 2,3                  | 2,3                 |
| Referenzprobe<br>Baumwolle<br>(# 14 07 086)           | [%]                | SD                   | 4,7                 |
|   |                    | 11,47                | 3,92                |
|   |                    | 0,00                 | 35,01               |
|   |                    | 7,34                 | 10,91               |
|   |                    | 0,00                 | 2,53                |
|   |                    | 0,00                 | 26,70               |
|   |                    | 13,09                | 4,04                |
| Textilprobe<br>„SeaCell <sup>®</sup><br>(# 14 07 085) | [%]                | Mittelwert           | 5,3                 |
|   |                    | SD                   | 13,9                |
|   |                    | p-Wert (Kontrolle)   | 5,6                 |
|   |                    | 0,3824               | 12,5                |
|   |                    | 30,11                | 0,0834              |
|   |                    | 37,43                | 67,22               |
|   |                    | 40,72                | 72,75               |
|   | Mittelwert         | 34,40                | 61,34               |
|   | SD                 | 26,06                | 68,34               |
|   | p-Wert (Kontrolle) | 31,31                | 74,52               |
|   |                    | 33,3                 | 62,16               |
|   | Mittelwert         | 4,8                  | 67,7                |
|   | SD                 | 0,0001               | 4,9                 |
|   | p-Wert (Kontrolle) | 0,0001               | 0,0001              |

**CONFIDENTIAL – VERTRAULICH**

Studienbericht

Untersuchung der antioxidativen Wirksamkeit von Textilprobe „SeaCell<sup>®</sup>“ (# 14 07 085) im Vergleich zu Baumwolle (# 14 07 086) *in vitro*