

## Metabolismus des Anti-Schuppen-Wirkstoffs Climbazol nach oraler Gabe und dermalen Applikation\*

I. Schönrath<sup>1</sup>  
C. Schmidtkunz<sup>1</sup>  
K.E. Ebert<sup>2</sup>  
K. Küpper<sup>1</sup>  
T. Brüning<sup>2</sup>  
H.M. Koch<sup>2</sup>  
G. Leng<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Currenta GmbH & Co. OHG, Institut für Biomonitoring, Leverkusen

<sup>2</sup>Institut für Prävention und Arbeitsmedizin der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung, Institut der Ruhr-Universität Bochum (IPA)

(eingegangen am 16.07.2024, angenommen am 12.08.2024)

### ABSTRACT / ZUSAMMENFASSUNG

#### Metabolism of the anti-dandruff agent climbazole after oral and dermal administration

Due to its antimycotic properties, climbazole is used in cosmetic products as a preservative or as an active ingredient in anti-dandruff (AD) formulations. In order to provide human toxicokinetic data on climbazole, we investigated the urinary excretion of two climbazole metabolites, (OH)<sub>2</sub>-climbazole and cx-OH-climbazole, for 48 h after oral intake (n = 5, 49–77 µg/kg body weight [bw]) and for 72 h after dermal application of either a climbazole-containing rinse-off AD shampoo or a leave-on hair tonic (n = 2 × 3). In total, 23.9% (18.0–33.4%) of the oral dose were excreted as the two examined metabolites within a period of 48 h after dosage. After dermal application, urinary excretion was slower than after oral intake. Back-calculated oral-dose-equivalent intakes from the dermal exposures lead to maximum climbazole intakes of 18.5 µg/kg bw/day after one-time hair tonic use and 6.6 µg/kg bw/day after AD shampoo application, which are below the relevant toxicological threshold values. The study results further indicate a possible influence of herb-drug interactions on climbazole metabolism.

**Keywords:** Climbazole – excretion kinetics – human biomonitoring (HBM)

doi:10.17147/asu-1-411962

ASU *Arbeitsmed Sozialmed Umweltmed* 2025; 60: 46–50

#### Metabolismus des Anti-Schuppen-Wirkstoffs Climbazol nach oraler Gabe und dermalen Applikation

Climbazol wird aufgrund seiner antimykotischen Eigenschaften als Konservierungsmittel oder Anti-Schuppen-Wirkstoff in Kosmetikprodukten eingesetzt. In der folgenden Studie wurde die Toxikokinetik von Climbazol im Menschen untersucht: Nach oraler Gabe von Climbazol (n = 5; 49–77 µg/kg Körpergewicht [KG]) bzw. dermalen Exposition gegenüber jeweils einem Anti-Schuppen-Shampoo und einer Haarlotion (n = 2 × 3) wurden 48 bzw. 72 Stunden lang die Urinproben der Probandinnen und Probanden gesammelt und auf die beiden Metaboliten (OH)<sub>2</sub>-Climbazol und cx-OH-Climbazol untersucht. Insgesamt wurden bei der oralen Studie 23,9% (18,0–33,4%) der verabreichten Climbazol-Dosis in Form der genannten Metabolite ausgeschieden. Nach dermalen Applikation war die Ausscheidung langsamer. Mit dem Konversionsfaktor von 23,9% konnten die Äquivalente der oralen Dosis zurückgerechnet werden. Die maximal aufgenommenen Climbazol-Mengen betragen 18,5 µg/kg KG/Tag bei der Haarlotion und 6,6 µg/kg KG/Tag beim Shampoo und lagen bei Einzelanwendung somit unterhalb der relevanten toxikologischen Grenzwerte. Die Studiendaten lieferten zudem Hinweise auf eine mögliche Beeinflussung des Climbazol-Stoffwechsels durch pflanzliche Präparate.

**Schlüsselwörter:** Climbazol – Exkretionskinetik – Human-Biomonitoring (HBM)

### Einleitung

Climbazol (1-(4-Chlorphenoxy)-1-(imidazol-1-yl)-3,3-dimethylbutan-2-on; Crinipan® AD) ist ein Azol-Fungizid und wird daher als Anti-Schuppen-Wirkstoff in Haarpflegeprodukten sowie als Konservierungsmittel in anderen Kosmetika verwendet. Da es Hinweise auf eine mögliche endokrine Wirkung gibt, ist in der EU die Verwendung

von Climbazol in kosmetischen Produkten begrenzt: Wird Climbazol als Konservierungsmittel verwendet, dürfen Haarlotionen, Gesicht- und Fußcremes einen Climbazol-Gehalt von 0,2% und Shampoos zum Auswaschen einen Gehalt von 0,5% aufweisen, während Anti-Schuppen-Shampoos, in denen Climbazol als aktiver Wirkstoff eingesetzt wird, 2% Climbazol enthalten dürfen (European Parliament and Council of the European Union 2009; ECHA 2019; European

\* Der Beitrag beruht auf der Arbeit von Schönrath I et al.: Human urinary excretion kinetics of the antimycotic climbazole: Biomonitoring of two new metabolites after oral and dermal dosage. *Toxicology Letters* 2024; 399: 25–33. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2024.06.011>

Commission 2019). Die Toxikokinetik von Climbazol in Säugetieren ist bisher wenig untersucht. Potenzielle Metabolite wurden vom verwandten Fungizid Triadimefon abgeleitet (Zarn 2004). Die postulierten Metabolite (OH)<sub>2</sub>-Climbazol und cx-OH-Climbazol konnten im Rahmen der Methodenentwicklung bestätigt werden (Schmidtkunz 2021).

Das Ziel dieser Studie war nun die Quantifizierung der Climbazol-Metabolite (OH)<sub>2</sub>-Climbazol und cx-OH-Climbazol nach oraler Gabe und dermalen Applikation mittels Ultrahochleistungs-Flüssigchromatographie gekoppelt mit einem Tandem-Massenspektrometer (UHPLC-MS/MS). Nach oraler Gabe sollte der renale Konversionsfaktor  $F_{UE}$  bestimmt werden, um in zukünftigen Studien von Urinkonzentrationen auf die aufgenommene Menge Climbazol zurückrechnen zu können. Zur toxikologischen Bewertung stehen ein NOEL (no observed effect level, 5 mg/kg KG/Tag) und ein NOAEL (no observed adverse effect level, 15 mg/kg KG/Tag) zur Verfügung (ECHA o. J.; SCCS 2017; SCCS 2018). Zudem sollte die Frage beantwortet werden, ob die analytische Methode sensitiv genug ist, um die zuvor genannten Climbazol-Metabolite nach einer typischen dermalen Exposition nachzuweisen.

## Studiendesign

Für die orale Studie haben fünf Probandinnen und Probanden (drei Frauen, zwei Männer, 25–38 Jahre alt, V1–V5) 4,82 mg Climbazol (gelöst in einem Milliliter Ethanol und verdünnt mit Wasser) eingenommen, und ihre Urinproben wurden über 48 h in einzelnen Fraktionen vollständig gesammelt. Die verabreichte Dosis lag deutlich unter dem derived no effect level (DNEL) für Arbeitende (ECHA o. J.), der wiederum auf dem oben genannten NOAEL basiert. Zur Beurteilung der dermalen Aufnahme wurden zwei Studien mit unterschiedlichen Haarpflegeprodukten in möglichst alltagstypischen Szenarien durchgeführt: In der Shampoo-Studie benutzten drei Versuchspersonen (eine Frau, zwei Männer, 29–50 Jahre alt) eine für ihren Haarwuchs angemessene, abgewogene Menge des Anti-Schuppen-Shampoos „Crisan Intensiv“ (Lornamed GmbH) und ließen es während der Haarwäsche 120 Sekunden einwirken. Dieselben Personen trugen zwei Monate später in der Haarlotion-Studie jeweils eine Ampulle (10 ml) „Anti-Dandruff Serum calendula & climbazole“ (Londa Professional) auf. Dieses Produkt verblieb im Haar und wurde erst mit der nächsten regulären Haarwäsche ausgespült. In beiden Szenarien wurde der Urin der Probandinnen und Probanden über 72 Stunden in einzelnen Fraktionen gesammelt. Für die Berechnung der dermalen Aufnahme wurde für beide Produkte der jeweils maximal erlaubte Climbazol-Gehalt angenommen (2 % für das Shampoo, 0,2 % für die Haarlotion).

Die Studie wurde nach den Richtlinien des Ethikkodex des Weltärztebundes (Deklaration von Helsinki) durchgeführt und von der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Ruhr-Universität Bochum (Reg.-Nr. 19-6687-BR) befürwortet.

## Ergebnisse und Diskussion

### Orale Studie

Die fünf Versuchspersonen der oralen Studie gaben im 48-Stunden-Probenahmezeitraum insgesamt 107 Urinproben ab. Zudem wurde

von allen Personen jeweils eine Urinprobe vor der Dosierung abgegeben, um eine Hintergrundbelastung von Climbazol auszuschließen. Die Messung dieser Leerproben zeigte, dass tatsächlich keine Hintergrundbelastung vorlag. Im Gegensatz dazu konnten nach der Climbazol-Aufnahme in allen Proben die beiden Metabolite cx-OH-Climbazol und (OH)<sub>2</sub>-Climbazol quantifiziert werden.

Die Ausscheidungskinetiken der beiden Metabolite sind in **Abb. 1a** dargestellt. Die beiden Metabolite wiesen ähnliche Exkretionsprofile auf. Die Maximalkonzentrationen der ausgeschiedenen Metabolite wurden bei allen Probandinnen und Probanden 90 bis 130 Minuten nach der Dosierung erreicht. Gerade in der Kreatinin-korrigierten Darstellung ließen sich bei allen zwei Eliminationsphasen ausmachen: Die erste Phase, die durch einen stärkeren Abfall der Konzentration der Metabolite im Urin gekennzeichnet war, dauerte etwa die ersten zehn Stunden nach der Dosierung an. In der zweiten Phase verlangsamte sich die Exkretion. Daher wurden die Halbwertszeiten für beide Phasen separat berechnet.

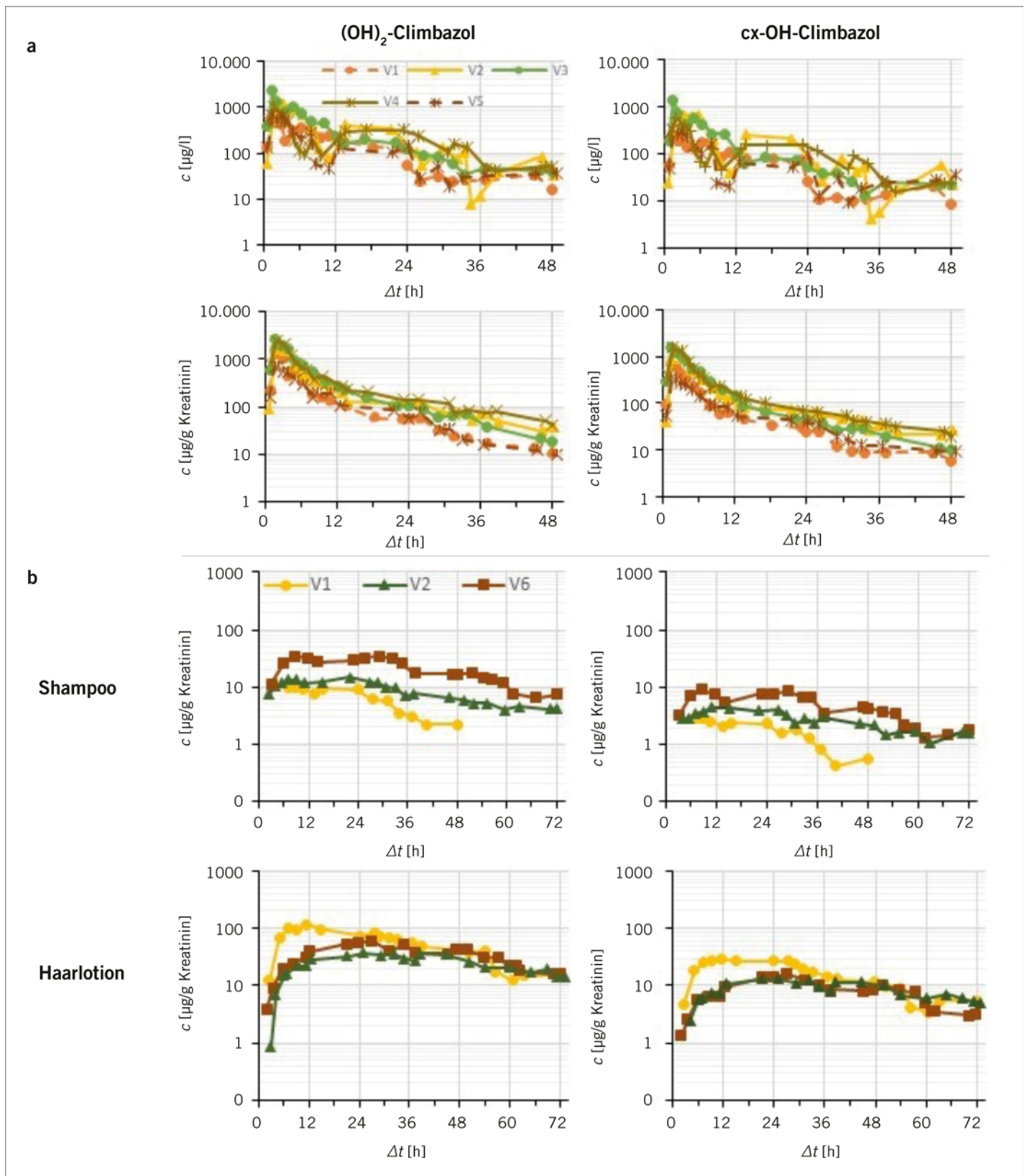
Die individuellen Unterschiede zwischen den Versuchspersonen V1 bis V4 waren gering, nur bei V5 wurde eine deutlich verminderte Ausscheidung im Vergleich zu den anderen beobachtet. Aufgrund dieser Auffälligkeit wurde die Anamnese von V5 genau evaluiert. Dabei fiel auf, dass V5 im Zeitraum der Dosierung ein freiverkäufliches Arzneimittel mit Johanniskraut eingenommen hatte. Da Johanniskraut dafür bekannt ist, mit vielen anderen Arzneimitteln durch die Induktion von CYP3A4 zu wechselwirken (Obach 2000; Komoroski 2004), kann auch ein Einfluss auf den Metabolismus von Climbazol nicht ausgeschlossen werden. Für die Bestimmung der toxikokinetischen Parameter wurde V5 daher gesondert behandelt.

Die mittleren ausgeschiedenen Maximalkonzentrationen betragen 2225 µg/g Kreatinin (OH)<sub>2</sub>-Climbazol und 1230 µg/g Kreatinin cx-OH-Climbazol. Dieses Metabolitenverhältnis von ca. 2:1 wurde während des gesamten Probenahmezeitraums und bei allen Versuchspersonen beobachtet. Die Unterteilung der Exkretion in zwei Phasen konnte mit der Berechnung der Halbwertszeiten legitimiert werden, da die durchschnittliche Halbwertszeit in der zweiten Phase um den Faktor 2 bis 3 länger war als in der ersten.

Die Auftragung der kumulierten ausgeschiedenen Menge Climbazol gegen die Zeit nach Dosierung (**Abb. 2**) zeigt, dass innerhalb der ersten 24 Stunden im Durchschnitt 14,1 % der Dosis als (OH)<sub>2</sub>-Climbazol und 7,3 % als cx-OH-Climbazol ausgeschieden wurden. Die Exkretion am nächsten Tag hingegen war mit 1,7 % für (OH)<sub>2</sub>-Climbazol und 0,8 % als cx-OH-Climbazol schon deutlich geringer. Unter Berücksichtigung der ersten beiden Tage konnte angenommen werden, dass die Exkretion an den Folgetagen vernachlässigbar sein würde und ein 48-Stunden- $F_{UE}$  somit angemessen war. Aus dem prozentualen Anteil der beiden Metaboliten ergab sich dass nach 48 Stunden im Durchschnitt 23,9 % der oral verabreichten Climbazol-Dosis als einer der beiden Metabolite ausgeschieden wurde. Da bei V5 eine Beeinflussung des Stoffwechsels durch Johanniskraut wahrscheinlich erschien, wurde V5 in der Berechnung des durchschnittlichen Ausscheidungsfaktors nicht berücksichtigt.

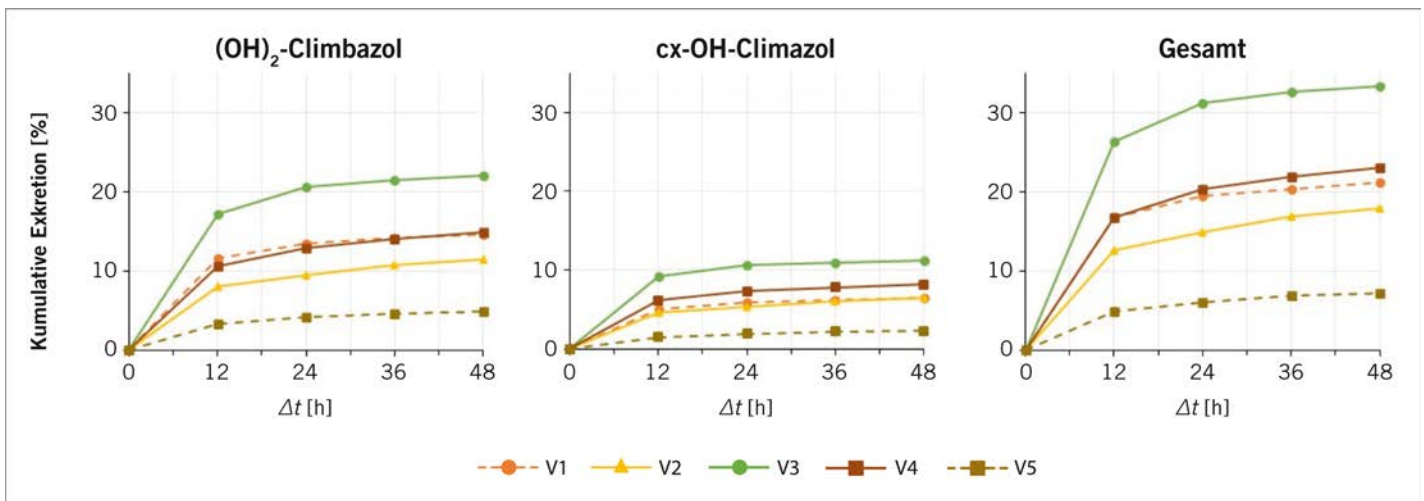
### Dermale Studie

Bei einer dermalen Applikation wird im Vergleich zu einer oralen Gabe eine verzögerte Aufnahme erwartet, so dass bei den dermalen Studien der Probenahmezeitraum auf 72 Stunden erweitert wurde.



**Abb. 1:** **a** Exkretionsprofile vom (OH)<sub>2</sub>-Climbazol und cx-OH-Climbazol im zeitlichen Verlauf in µg/l (oben) und µg/g Kreatinin (unten) nach oraler Dosierung. **b** Exkretionsprofile der beiden Climbazol-Metaboliten im Urin von drei Probandinnen und Probanden nach der Anwendung von Climbazol-haltigem Shampoo (oben) und Haarlotion (unten)

*Fig. 1: a* Excretion profiles of (OH)<sub>2</sub>-climbazole and cx-OH-climbazole over time in µg/l (top) and µg/g creatinine (bottom) after oral dosage. *b* Excretion profiles of both climbazole metabolites in three volunteers' urine after the application of either a climbazole-containing shampoo (top) or hair tonic (bottom)



**Abb. 2:** Kumulierte Exkretion (molar, in Prozent der oralen Dosis) der einzelnen Metaboliten und ihrer Summe in Abhängigkeit von der Zeit nach der oralen Dosierung

*Fig. 2: Cumulated excretion (molar, in percent of oral dose) of the respective metabolites and their sum versus the time after oral dosage*

Bei beiden dermalen Studien wurden jeweils insgesamt 68 Proben von allen Versuchspersonen gesammelt. Auch hier wurde durch die Abgabe einer Leerprobe vor der Verwendung der jeweiligen Haarpflegeprodukte gewährleistet, dass die Probandinnen und Probanden nicht schon mit Climbazol vorbelastet waren.

Die entwickelte Methode erwies sich als ausreichend sensitiv, um die Climbazol-Aufnahme und Ausscheidung nach üblicher, einmaliger dermalen Anwendung der Haarpflegeprodukte quantitativ zu erfassen. So konnten beide Metaboliten bis mindestens 48 h nach der Shampoo-Anwendung und bis 72 h nach der Haarlotion-Anwendung quantifiziert werden. Die Exkretionsprofile beider dermalen Anwendungstypen (s. **Abb. 1b**) zeigen, dass insgesamt deutlich geringere Mengen der Metabolite ausgeschieden wurden und dass die Exkretion langsamer verlief als nach oraler Gabe. Durch die Plateaus am ersten Probenahmetag war die Bestimmung des Zeitpunkts der maximalen Konzentration schwierig. Bei allen Versuchspersonen waren die gemessenen Metabolitkonzentrationen bei der Haarlotion-Studie höher als in der Shampoo-Studie. Dies ist wegen der längeren Einwirkzeit der Haarlotion und deren Formulierungseigenschaften (hoher Alkoholanteil) durchaus plausibel.

Mit dem renalen Konversionsfaktor ( $F_{ur}$ ) der oralen Studie ließ sich aus den im Urin quantifizierten Metaboliten die aufgenommene Menge zurückrechnen (Äquivalente der oralen Dosis). Auch hier lag die Haarlotion trotz des geringeren erlaubten Climbazol-Gehalts vorn: In der Haarlotion-Studie wurden Aufnahmen von 2,6 bis 9,3 % berechnet, während die Aufnahme beim Shampoo mit 0,1 bis 0,4 % mindestens eine Zehnerpotenz geringer war. Die in der Shampoo-Studie berechneten Werte für die Aufnahme passten gut zu einer Studie, die die Permeation von Climbazol in einem In-vitro-Experiment an Menschenhaut untersucht hatte (Paz-Alvarez 2018). Dort lag die Permeation auch im Promillebereich. Die maximale Aufnahme der Haarlotion (9,3 %) entsprach einem Äquivalent der oralen Dosis von 18,5  $\mu\text{g}/\text{kg KG}/\text{Tag}$  und lag damit noch um einen Faktor von 800 unterhalb des NOELs von 15  $\text{mg}/\text{kg KG}/\text{Tag}$  und um einen Faktor von 270 unterhalb des NOELs von

5  $\text{mg}/\text{kg KG}/\text{Tag}$ . Dennoch muss berücksichtigt werden, dass sich bei der Verwendung mehrerer Climbazol-haltiger Produkte und/oder bei der Verwendung an mehreren aufeinanderfolgenden Tagen die Belastung wegen der verzögerten Ausscheidung akkumulieren kann. Bei der Bewertung ist ferner ein Sicherheitsfaktor in Bezug auf NOEL oder NOAEL zu berücksichtigen; hier wurde bisher ein Faktor von 100 als adäquat angesehen (ECHA o. J.; SCCS 2017; SCCS 2018).

## Fazit

Mit der Untersuchung von  $(OH)_2$ -Climbazol und cx-OH-Climbazol im Urin konnte gezeigt werden, dass es sich bei diesen beiden Analyten um valide Biomarker handelt, um die innere Belastung bei einer oralen und dermalen Climbazol-Exposition zu beurteilen. 15,8 % (11,5–22,1 %) und 8,1 % (6,5–11,3 %) der oralen Climbazol-Dosis wurden im Urin als  $(OH)_2$ -Climbazol beziehungsweise cx-OH-Climbazol ausgeschieden. Wie erwartet wurden nach dermalen Applikation längere Halbwertszeiten und geringere Metabolitenkonzentrationen festgestellt als nach oraler Gabe. Es konnte gezeigt werden, dass auch nach dermalen Anwendung handelsüblicher Produkte die Methode sensitiv genug ist, um die ausgeschiedene Menge der Metabolite  $(OH)_2$ -Climbazol und cx-OH-Climbazol zu quantifizieren. Die in unserer Studie gefundenen maximalen oralen Dosisäquivalente waren noch relativ weit vom NOEL und NOAEL entfernt, jedoch sollte bei zukünftigen Risikobewertungen berücksichtigt werden, dass die Exkretion von Climbazol nach dermalen Aufnahme mehrere Tage dauert und es so zu einer Akkumulation der Substanz kommen kann.

Auch wenn das Studiendesign nicht darauf ausgelegt war, die Unterschiede des Climbazol-Metabolismus von Proband V5 näher zu erörtern, scheinen diese Besonderheiten auch in Bezug auf Climbazol zu bestätigen, dass auch freiverkäufliche, pflanzliche Arzneimittel den Fremdstoffmetabolismus beeinflussen können. Wir empfehlen daher, diese Produkte in den Anamnese-Fragebögen zu berücksichtigen.

**Danksagung:** Die Metabolismusstudie und die Entwicklung der analytischen Methode sind Teil des Kooperationsprojekts von Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz, nukleare Sicherheit und Verbraucherschutz (BMUV) und dem Verband der Chemischen Industrie (VCI) zur Förderung des Humanbiomonitorings in Deutschland. Expertinnen und Experten von Behörden, Industrie und Wissenschaft machen Vorschläge für Substanzen, die im Rahmen des Projekts behandelt werden sollen. Die Entwicklung der analytischen Methode und die Metabolismusstudie wurden von der Chemie-Wirtschaftsförderungsgesellschaft mbH finanziert. Der Geldgeber war nicht in das Studiendesign, die analytischen Messungen oder die Gestaltung dieses Manuskripts involviert.

**Autorenschaft:** KK: Validierung, Methodik, Messung; CS: Manuskript – Review & Änderungen, Visualisierung, Projektverwaltung, Recherche, Finanzierungsakquise, Analyse, Konzept; KEE: Manuskript – Review & Änderungen, Methode, Konzept; IS: Manuskript – Erstentwurf, Validierung, Recherche, Analyse, Konzept; GL: Manuskript – Review & Änderungen, Supervision, Finanzierungsakquise; TB: Manuskript – Review & Änderungen, Supervision, Ressourcen; HMK: Manuskript – Review & Änderungen, Supervision, Ressourcen, Methode, Konzept.

**Interessenskonflikt:** Holger M. Koch und Gabriele Leng erklären, dass sie innerhalb der vergangenen drei Jahre Forschungsunterstützung von der Chemie Wirtschaftsförderungsgesellschaft mbH erhalten haben.

## Literatur

ECHA: *Climbazole Registration Dossier*. <https://echa.europa.eu/de/registration-dossier/-/registered-dossier/11657/7/1> (abgerufen am 22.07.2022).

ECHA: *Decision on substance evaluation*. 2019. <https://echa.europa.eu/documents/10162/3a4066bc-40c9-ca26-eae2-2f43d4d08163> (abgerufen am 22.07.2022).

European Commission, Directorate General for Internal, Market, Industry, Entrepreneurship and SMEs: *Commission Regulation (EU) 2019/698 of 30 April 2019 amending Annexes III and V to Regulation (EC) No 1223/2009 of the European Parliament and of the Council on cosmetic products*. 2019.

European Parliament and Council of the European Union: *Regulation (EC) No 1223/2009 of the European Parliament and of the Council of 30 November 2009 on cosmetic products (recast)* 1223/2009: 197.

Komorowski BJZ, Cal H, Hutzler JM, Frye, R, Tracy TS, Strom SC, Lehmann T, Ang CYW, Cui YY, Vekataramanan R: *Induction and inhibition of cytochromes P450 by the St. John's wort constituent hyperforin in human hepatocyte cultures*. *Drug Metabolism and Disposition* 2004; 32: 512–518.

Obach RS: *Inhibition of human cytochrome P450 enzymes by constituents of St. John's Wort, an herbal preparation used in the treatment of depression*. *J Pharmacol Exp Ther* 2000; 294: 88–95.

Paz-Alvarez M, Pudney PDA, Hadgraft J, Lane ME: *Topical delivery of climbazole to mammalian skin*. *Int J Pharm* 2018; 549: 317–324.

SCCS: *Addendum to the opinion on climbazole (P64) ref. SCCS/1506/13, 24-25 October 2017, SCCS/1590/17*.

SCCS: *Addendum to the scientific Opinions on climbazole (P64) ref. SCCS/1506/13 and SCCS/1590/17, final version adopted on 21-22 June 2018, SCCS/1600/18*.

Schmidtkunz C, Küpper K, Gries W, Leng G: *A validated LC-MS/MS method for the quantification of climbazole metabolites in human urine*. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2021; 1173: 122677.

Zarn JDL, Boobis A: *Pesticide residues in food – 2004: toxicological evaluations*. *Joint Meeting of the FAO Panel of Experts on Pesticide Residues* 2004. Rome, Italy, S. 325–386.

## Kontakt

**Dr. rer. nat. Isabell Schönraht**

Currenta GmbH & Co. OHG

Institut für Biomonitoring

Chempark Gebäude Q 18, 51368 Leverkusen

isabell.schoenraht@currenta.biz