

**Pharmakologische und klinische
Untersuchungen zur Wirksamkeit
eines standardisierten
Weidenrindenextraktes**

D I S S E R T A T I O N

der Fakultät für Chemie und Pharmazie
der Eberhard-Karls-Universität Tübingen

zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Naturwissenschaften

2003

vorgelegt von

Irmela Wagner

Tag der mündlichen Prüfung: 16. Juni 2003

Dekan: Prof. Dr. med. Hansgeorg Probst

Erster Berichterstatter: Prof. Dr. rer. nat. Lutz Heide

Zweiter Berichterstatter: Prof. Dr. med. Christoph H. Gleiter

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

Originalarbeiten

Wagner I, Greim C, Laufer S, Heide L, Gleiter CH (2003) Influence of willow bark extract on cyclooxygenase activity and on tumor necrosis factor α or interleukin 1 β release in vitro and ex vivo. Clin Pharmacol Ther 73: 272-274

Übersichtsartikel und Buchbeiträge

Wagner I, Biegert C, Heide L (2003) Phytoanalgetika. Aktuelle Forschungsergebnisse zur Weidenrinde. Pharmazeutische Zeitung 148: 1153-1164

Wagner I, Heide L (2002) Bewertung klinischer Studien. In: Praxis der Arzneimittelinformation. Hrsg.: Weinzierl S; Govi-Verlag, Eschborn. S. 169-199

Wagner I (2001) Weidenrindenextrakt – ein pflanzliches Schmerzmittel. Apothekenmagazin Mai 2001: 10-15

Heide L, Biegert C, Wagner I (2001) Rheumatische Erkrankungen. In: Angewandte Arzneimitteltherapie. Hrsg.: Schneemann H, Young LY, Koda-Kimble MA; Springer-Verlag, Berlin. S. 343-361

Tagungsbeiträge (Poster)

Mehr als nur Salicin? Pharmakokinetische, pharmakologische und klinische Untersuchungen zur Weidenrinde. Wagner I, Schmid B, Greim C, Laufer S, Kötter I, Heide L. 14. Irseer Naturstofftage der DECHEMA e.V., Irsee 2002

Biegert C, Wagner I, Schmid B, Kötter I, Günaydin I, Heide L. Willow bark in the treatment of rheumatic disorders: randomized controlled trials. Jahrestagung der Gesellschaft für Arzneipflanzenforschung, Zürich 2000

Inhaltsverzeichnis

1	ZUSAMMENFASSUNG	1
2	EINLEITUNG	3
2.1	WEIDENRINDE	3
2.1.1	Geschichte der medizinischen Anwendung	3
2.1.2	Monographien.....	3
2.1.3	Inhaltsstoffe	4
2.1.4	Pharmakokinetische Untersuchungen	5
2.1.5	Pharmakologische Untersuchungen	6
2.1.5.1	In vitro-Untersuchungen	6
2.1.5.2	Tierversuche	6
2.1.5.3	Untersuchungen zur Thrombozytenaggregation	7
2.1.6	Klinische Wirksamkeit.....	7
2.1.6.1	Klinische Wirksamkeit bei Arthrose	8
2.1.6.2	Klinische Wirksamkeit bei Rückenschmerzen	8
2.1.7	Nebenwirkungen.....	9
2.1.8	Zusammenfassende Beurteilung der bisherigen Daten zur Weidenrinde	10
2.2	PHARMAKOLOGISCHE ANGRIFFPUNKTE BEI SCHMERZ UND ENTZÜNDUNG	11
2.2.1	Hemmung der Zyklooxygenase	11
2.2.1.1	Zyklooxygenase-Isoformen.....	11
2.2.1.2	Bestimmung und Definition der COX-2-Selektivität.....	12
2.2.2	Hemmung der Zytokin-Freisetzung.....	13
2.3	RHEUMATOIDE ARTHRITIS	14
2.3.1	Definition.....	14
2.3.2	Epidemiologie	15
2.3.3	Pathogenese	15
2.3.4	Therapie	16
2.3.4.1	Therapierichtlinien	16
2.3.4.2	Bestimmung der Krankheitsaktivität in klinischen Studien	17
2.3.4.3	Wirksamkeit nicht-steroidaler Antirheumatika bei Rheumatoider Arthritis	18
2.3.4.4	Nebenwirkungen nicht-steroidaler Antirheumatika	19
2.3.4.5	Phytopharmaka bei Rheumatoider Arthritis	20
2.3.4.6	Möglicher Stellenwert von Weidenrindenextrakt in der Behandlung der Rheumatoiden Arthritis	21
2.4	ZIELSETZUNG DER VORLIEGENDEN ARBEIT	22
3	MATERIAL UND METHODEN	23
3.1	UNTERSUCHUNGEN ZUR PHARMAKOLOGIE	23
3.1.1	Weidenrindenextrakt.....	23
3.1.2	Chemikalien, Biochemikalien und Assay-Kits	23
3.1.3	Lösungen.....	24
3.1.4	In vitro-Untersuchungen	26
3.1.4.1	Blutproben.....	26
3.1.4.2	Testsubstanzen	26
3.1.4.3	Methodik des Cox-1-Vollblutassays	27
3.1.4.4	Methodik des Cox-2-Vollblutassays	28
3.1.4.5	Methodik des Zytokin-Vollblutassays	30
3.1.4.6	Auswertung.....	31

3.1.5	Untersuchungen zur Zytotoxizität	31
3.1.5.1	MTT-Assay.....	31
3.1.5.2	Trypanblau-Färbung	32
3.1.6	Ex vivo-Untersuchungen: Probandenstudie.....	34
3.1.6.1	Prüfpräparate.....	34
3.1.6.2	Design und Ablauf der Probandenstudie.....	34
3.1.6.3	Methodik der ex vivo-Vollblutassays	36
3.1.6.4	Auswertung.....	36
3.2	KLINISCHE STUDIE	37
3.2.1	Studienprotokoll	37
3.2.1.1	Studienziel	37
3.2.1.2	Studiendesign	37
3.2.1.3	Patientenkollektiv	38
3.2.1.4	Prüfzentren	40
3.2.1.5	Behandlungen.....	41
3.2.1.6	Randomisierung.....	42
3.2.1.7	Verblindung.....	42
3.2.1.8	Begleittherapien.....	42
3.2.1.9	Compliance.....	43
3.2.1.10	Zielparameter.....	44
3.2.1.11	Studienablauf.....	46
3.2.1.12	Fallzahlabeschätzung.....	47
3.2.1.13	Statistische Verfahren.....	47
3.2.2	Datenmanagement	51
4	ERGEBNISSE	53
4.1	UNTERSUCHUNGEN ZUR PHARMAKOLOGIE.....	53
4.1.1	In vitro-Untersuchungen	53
4.1.1.1	Ergebnisse für die Referenzsubstanzen.....	54
4.1.1.2	Ergebnisse für den Weidenrindenextrakt	55
4.1.1.3	Schlussfolgerungen zu den in vitro-Untersuchungen	56
4.1.2	Untersuchungen zur Zytotoxizität	56
4.1.2.1	MTT-Assay.....	56
4.1.2.2	Trypanblau-Färbung	58
4.1.2.3	Schlussfolgerungen zu den Untersuchungen zur Zytotoxizität	58
4.1.3	Ex vivo-Untersuchungen: Probandenstudie.....	58
4.1.3.1	Baseline-Werte der Probanden	59
4.1.3.2	Ergebnisse nach der Einnahme von Diclofenac.....	59
4.1.3.3	Ergebnisse nach der Einnahme von Weidenrindenextrakt	61
4.1.3.4	Schlussfolgerungen zu den ex vivo-Untersuchungen	61
4.2	KLINISCHE STUDIE	62
4.2.1	Vorbemerkung	62
4.2.2	Ethische und rechtliche Aspekte.....	62
4.2.3	Einhaltung des Studienprotokolls	63
4.2.3.1	Qualitätskontrollen	63
4.2.3.2	Anzahl der Studienpatienten	63
4.2.3.3	Compliance.....	64
4.2.3.4	Protokollverstöße.....	64
4.2.3.5	Randomisierung.....	66
4.2.3.6	Verblindung.....	66
4.2.3.7	Statistische Auswertung	67
4.2.3.8	Schlussfolgerungen zur Einhaltung des Studienprotokolls	68
4.2.4	Studienpatienten.....	69
4.2.4.1	Einteilung der Studienpatienten.....	69
4.2.4.2	Studienabbrüche.....	71
4.2.4.3	Patientenpopulationen.....	71

4.2.5	Baseline-Daten	72
4.2.5.1	Demographische Daten	72
4.2.5.2	Krankheitsbezogene Daten	72
4.2.5.3	Zielparameter	73
4.2.6	Auswertungen zur Wirksamkeit	75
4.2.6.1	Intention-to-treat-Auswertung des Hauptzielparameters	75
4.2.6.2	Per-protocol-Auswertung des Hauptzielparameters	80
4.2.6.3	Intention-to-treat-Auswertung der Nebenzielparameter	83
4.2.6.4	Per-protocol-Auswertung der Nebenzielparameter	91
4.2.6.5	Zusammenfassung der Zielparameter	92
4.2.6.6	Schlussfolgerungen zur Wirksamkeit	94
4.2.7	Auswertungen zur Sicherheit	95
4.2.7.1	Patientenurteil zur Verträglichkeit	95
4.2.7.2	Labordaten	95
4.2.7.3	Unerwünschte Ereignisse	96
4.2.7.4	Schlussfolgerungen zur Sicherheit	99
5	DISKUSSION.....	101
5.1	PHARMAKOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN	101
5.2	KLINISCHE STUDIE	103
5.2.1	Vergleich mit NSAR-Studien bei Rheumatoider Arthritis	105
5.2.2	Vergleich mit Weidenrindenstudien	106
5.3	FAZIT	109
6	LITERATUR.....	111
7	TABELLENANHANG	123

Abkürzungen

ACR	American College of Rheumatology
AMG	Gesetz über den Verkehr mit Arzneimitteln (Arzneimittelgesetz)
ANCOVA	Analysis of covariance (Kovarianzanalyse)
ANOVA	Analysis of variance (Varianzanalyse)
ASS	Acetylsalicylsäure
AUC	Area under the curve (Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve)
BfArM	Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte
BSG	Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit
95%-C.I.	95%-Konfidenzintervall
CO ₂	Kohlendioxid
COX	Zyklooxygenase
CRP	C-reaktives Protein
DMSO	Dimethylsulfoxid
DPBS	Dulbecco's phosphate buffered saline
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
EMA	The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products
ESCoP	European Scientific Cooperative on Phytotherapy
FDA	Food and Drug Administration
GCP	Good Clinical Practice
HAQ	Health Assessment Questionnaire
HLA	Human leukocyte antigen
IC ₅₀	Inhibitory concentration 50 (Konzentration, bei der eine 50-prozentige Hemmung auftritt)
IL-1 β	Interleukin-1 β
ILAR	International League of Associations for Rheumatology
ITT	Intention-to-treat
LKP	Leiter der klinischen Prüfung gemäß §40 AMG
LPS	Lipopolysaccharid
MHC	Major histocompatibility complex

MTT	[3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid]
NADH	Hydrierte Form von Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid
NADPH	Hydrierte Form von Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat
NFκB	Nuclear factor κB
NO	Stickstoffmonoxid
NSAR	Nicht-steroidales Antirheumatikum / Nicht-steroidale Antirheumatika
NYHA	New York Heart Association
PGE ₂	Prostaglandin E ₂
PP	Per-protocol
RA	Rheumatoide Arthritis
rpm	rounds per minute (Umdrehungen pro Minute)
SD / Std.-abw.	Standardabweichung
SF-36	Short Form 36 (Fragebogen zum allgemeinen Gesundheitszustand)
SOP	Standard Operating Procedure (schriftliche Handlungsanweisung)
TNFα	Tumornekrosefaktor α
TSH	Thromboxan-Synthase-Hemmstoff
UE	Unerwünschtes Ereignis
VAS	Visuelle Analogskala
WHO	World Health Organization (Weltgesundheitsorganisation)

1 Zusammenfassung

Weidenrindenpräparate sind in Deutschland zur Therapie fieberhafter Erkrankungen, rheumatischer Beschwerden und Kopfschmerzen zugelassen. Mehrere randomisierte, kontrollierte Studien deuten auf eine analgetische Wirksamkeit von Weidenrindenextrakt hin.

Im ersten Teil der vorliegenden Arbeit wurden mögliche pharmakologische Wirkmechanismen von Weidenrindenextrakt untersucht. Es konnte in humanen Vollblutassays gezeigt werden, dass Weidenrindenextrakt *in vitro* die Aktivität der Zyklooxygenase-1 (COX-1) und -2 (COX-2) sowie in geringerem Ausmaß die Freisetzung der proinflammatorischen Zytokine Tumornekrosefaktor α (TNF α) und Interleukin-1 β (IL-1 β) hemmt. Die Extraktkonzentrationen, bei denen eine 50-prozentige Hemmung auftrat (IC₅₀-Werte), betragen 35 μ g/ml (COX-1-Assay), 60 μ g/ml (COX-2-Assay), 438 μ g/ml (TNF α -Assay) und 566 μ g/ml (IL-1 β -Assay). Nach oraler Einnahme einer Einzeldosis Weidenrindenextrakt (entsprechend 240 mg Salicin) durch drei gesunde Probanden war jedoch *ex vivo* in keinem der Testsysteme eine Hemmwirkung nachweisbar. Die Validität und Empfindlichkeit der *ex vivo*-Untersuchungen wurde durch Kontrollversuche mit Diclofenac bestätigt, in denen eine deutliche COX-1- und COX-2-Hemmung auftrat. Somit wurde die Hypothese widerlegt, dass der verwendete Weidenrindenextrakt, ähnlich wie die meisten nicht-steroidalen Antirheumatika, nach oraler Gabe über eine Hemmung der COX-1- und COX-2-Aktivität wirkt.

Im zweiten Teil dieser Arbeit wurde in einer klinischen Pilotstudie untersucht, ob sich Hinweise für eine analgetische und/oder antiinflammatorische Wirksamkeit von Weidenrindenextrakt bei Patienten mit Rheumatoider Arthritis ergeben, die eine größere Studie in dieser Indikation rechtfertigen würden. Mit dieser Studie wurde erstmals die Wirksamkeit von Weidenrindenextrakt bei einer entzündlichen rheumatischen Erkrankung untersucht.

In einer randomisierten, kontrollierten, doppelblinden, multizentrischen Pilotstudie wurde ein Weidenrindenextrakt (entsprechend 240 mg Salicin pro Tag) nach einer Auswaschphase von 4 bis 10 Tagen über 6 Wochen im Parallelgruppenvergleich gegen Placebo geprüft. Einschlussdiagnose war eine Rheumatoide Arthritis (Diagnosekriterien des American College of Rheumatology) mit einem aktiven Krankheitsbild. Eine konstante Begleittherapie mit Basistherapeutika oder niedrig-dosierten oralen Glukokortikoiden war erlaubt, NSAR und Analgetika mussten vor Studienbeginn abgesetzt werden. Die Zielparameter wurden entsprechend den gültigen internationalen Empfehlungen gewählt. Hauptzielparameter war die Schmerzveränderung auf einer 10 cm langen visuellen Analogskala (VAS) von Baseline zu Studienende. Nebenzielparameter waren die Anzahl druckschmerzhafter und geschwollener Gelenke (28-Joint-Count), die körperliche Funktionsfähigkeit (Health Assessment Questionnaire), die Morgensteifigkeit (10 cm-VAS), die Gesamtbeurteilung des

Therapieerfolgs durch Patient und Arzt, die Lebensqualität (SF-36), die Akutphase-reaktanten BSG und CRP, und die Anzahl der Patienten, die die Kriterien des American College of Rheumatology für eine „Verbesserung“ erfüllten (ACR-20-Responder). Die primäre Auswertung des Hauptzielkriteriums erfolgte auf Basis der Intention-to-treat-Population durch eine ANCOVA (Analysis of covariance), wobei die Ausgangsschmerzwerte und das Prüfzentrum als Kovariablen einbezogen wurden.

26 Patienten wurden von Juni 2001 bis November 2002 an vier Prüfzentren randomisiert (13 Weidenrinde, 13 Placebo). 7 Patienten brachen die Studie während der Prüfphase ab, 6 wegen mangelnder Wirksamkeit (3 Weidenrinde, 3 Placebo) und ein Weidenrindenpatient wegen eines Unerwünschten Ereignisses (Bandscheibenvorfall).

In fast allen Zielparametern wiesen die Patienten der Weidenrindengruppe zu Beginn der Prüfphase eine höhere Krankheitsbelastung auf als die Patienten der Placebogruppe. Im Hauptzielparameter zeigte die Weidenrindengruppe einen um 1 cm höheren Baseline-Mittelwert (5,5 cm) als die Placebogruppe (4,5 cm). Während der sechswöchigen Prüfphase verringerten sich die Schmerz-VAS-Werte in der Weidenrindengruppe um durchschnittlich 0,8 cm (15%) verglichen mit einer Verringerung von 0,2 cm (4%) in der Placebogruppe. Die statistische Auswertung mit einer ANCOVA ergab unter Berücksichtigung der unterschiedlichen Baseline-Werte einen geschätzten Unterschied zugunsten der Weidenrinde von $-0,08$ cm (95%-C.I.: $-2,09$ bis $1,93$ cm) und einen p-Wert von 0,934. Der beobachtete Therapievorteil ist daher statistisch nicht signifikant. In keinem der betrachteten Nebenzielkriterien zeigten sich statistisch signifikante Unterschiede zwischen Weidenrinde und Placebo.

Der Weidenrindenextrakt war insgesamt gut verträglich. In beiden Behandlungsgruppen traten in der Prüfphase 7 Unerwünschte Ereignisse auf. Bei zwei Unerwünschten Ereignissen in der Placebogruppe und bei einem Unerwünschten Ereignis in der Weidenrindengruppe wurde ein möglicher Zusammenhang mit dem Prüfmedikament dokumentiert.

Eine Wirksamkeit des standardisierten Weidenrindenextraktes bei Patienten mit Rheumatoider Arthritis konnte in dieser Studie nicht nachgewiesen werden. Die Berechnungen zur Power der Studie zeigen, dass die statistische Aussagekraft der Studie trotz der geringen Patientenzahlen vergleichsweise hoch ist. Die Wahrscheinlichkeit, dass in dieser Studie ein klinisch relevanter Unterschied zwischen Weidenrinde und Placebo nicht aufgedeckt wurde, ist gering (für $\Delta \geq 1,5$ cm beträgt die Wahrscheinlichkeit 7%, für $\Delta \geq 1$ cm 17%). Diese Studie zeigt, dass nur geringe Aussichten bestehen, in größeren Folgestudien in der Indikation Rheumatoide Arthritis eine Wirksamkeit dieses Weidenrindenextraktes aufzuzeigen.

2 Einleitung

2.1 Weidenrinde

2.1.1 *Geschichte der medizinischen Anwendung*

Die medizinische Anwendung der Weidenrinde wurde bereits in der Antike von Hippokrates, Plinius, Dioskurides und Galen berichtet [Fleming 1999]. Im Kräuterbuch des Tübinger Arztes und Gelehrten Leonhardt Fuchs von 1543 findet sich bei der Vielzahl der beschriebenen Anwendungen der Weidenrinde kein Hinweis auf einen Einsatz in den heute beanspruchten Indikationen Fieber oder rheumatische Erkrankungen [Fuchs 2001]. Erst 1763 berichtete der englische Geistliche Edward Stone [1763] von der Wirksamkeit der Weidenrinde bei fiebrigen Erkrankungen. 1828 isolierte Buchner [1828] das Phenolglykosid Salicin aus Weidenrinde und beschrieb 1831 [Buchner 1831] die Wirkung von Salicin bei Fieber. Maclagan [1876] berichtete 1876 über den erfolgreichen Einsatz von Salicin bei akutem Gelenkrheumatismus. Piria gelang 1838 die Gewinnung von Salicylsäure aus Salicin, und Kolbe synthetisierte 1860 Salicylsäure im Großmaßstab [Hedner et al. 1998]. Mit der Synthese von Acetylsalicylsäure durch Hoffmann im Jahr 1897 verlor die Weidenrinde therapeutisch an Bedeutung. Erst in den letzten Jahren erhielt die Weidenrinde im Rahmen der modernen Phytotherapie wieder verstärktes wissenschaftliches Interesse.

2.1.2 *Monographien*

Nach der Monographie „Weidenrinde - *Salicis cortex*“ des Europäischen Arzneibuches besteht Weidenrinde aus der „getrockneten Rinde junger Zweige oder aus ganzen, getrockneten Stücken junger Zweige des laufenden Jahrs“ [Europäische Arzneibuch-Kommission 2002]. Das Arzneibuch spezifiziert die Weidenarten nur dahingehend, dass ein Mindestgehalt von 1,5% Gesamt-Salicylsäure-Derivate, berechnet als Salicin, und bezogen auf die getrocknete Droge gefordert wird. Beispielfhaft werden die Purpurweide (*Salix purpurea*), die Reifweide (*Salix daphnoides*) und die Bruchweide (*Salix fragilis*) genannt.

Die Kommission E [1984] des früheren Bundesgesundheitsamtes fasste 1984 in einer Monographie über Weidenrinde den damaligen wissenschaftlichen Erkenntnisstand zusammen. Die Kommission E empfiehlt Weidenrinde für die Behandlung von „fieberhaften Erkrankungen, rheumatischen Beschwerden und Kopfschmerzen“ in einer Tagesdosis entsprechend 60-120 mg Gesamtsalicin. Die Dosierungsempfehlungen der European Scientific Cooperative on Phytotherapy (ESCOP) [1997] reichen bis 240 mg Gesamtsalicin pro Tag. Alle heute auf dem deutschen Markt erhältlichen Weidenrindenmonopräparate entsprechen den Dosierungsempfehlungen der Kommission E.

2.1.3 Inhaltsstoffe

Die Inhaltsstoffe von Weidenrinde sind umfassend charakterisiert worden [Meier 1988; Kaul et al. 1999]. Das Phenolglykosid Salicin ist der bekannteste Inhaltsstoff der Weidenrinde (Abbildung 1). In der Rinde liegt Salicin nicht frei, sondern hauptsächlich in Form der Ester Tremulacin, Salicortin und Acetylsalicortin vor [Meier et al. 1985].

Der Gesamtsalicingehalt variiert stark zwischen verschiedenen Weidenarten und liegt in der Rinde von *Salix purpurea*, *Salix daphnoides* und *Salix fragilis* zwischen 2% und 8% [Julkunen-Titto 1989; Hannig 2001]. Während der Extraktion der Weidenrinde werden, je nach Extraktionsverfahren, die Salicinester teilweise zu Salicin hydrolysiert. Salicylsäure selbst liegt in Weidenrindenextrakten nur in sehr geringer Konzentration (unter 1%) vor. Neben den Phenolglykosiden enthält Weidenrinde Flavonoide und Chalkone, z.B. Narigenin-5-glukosid und Isosalipurposid. Weitere Inhaltsstoffe sind Flavanverbindungen wie (+)-Catechin und kondensierte Gerbstoffe [Kolodziej 1990].

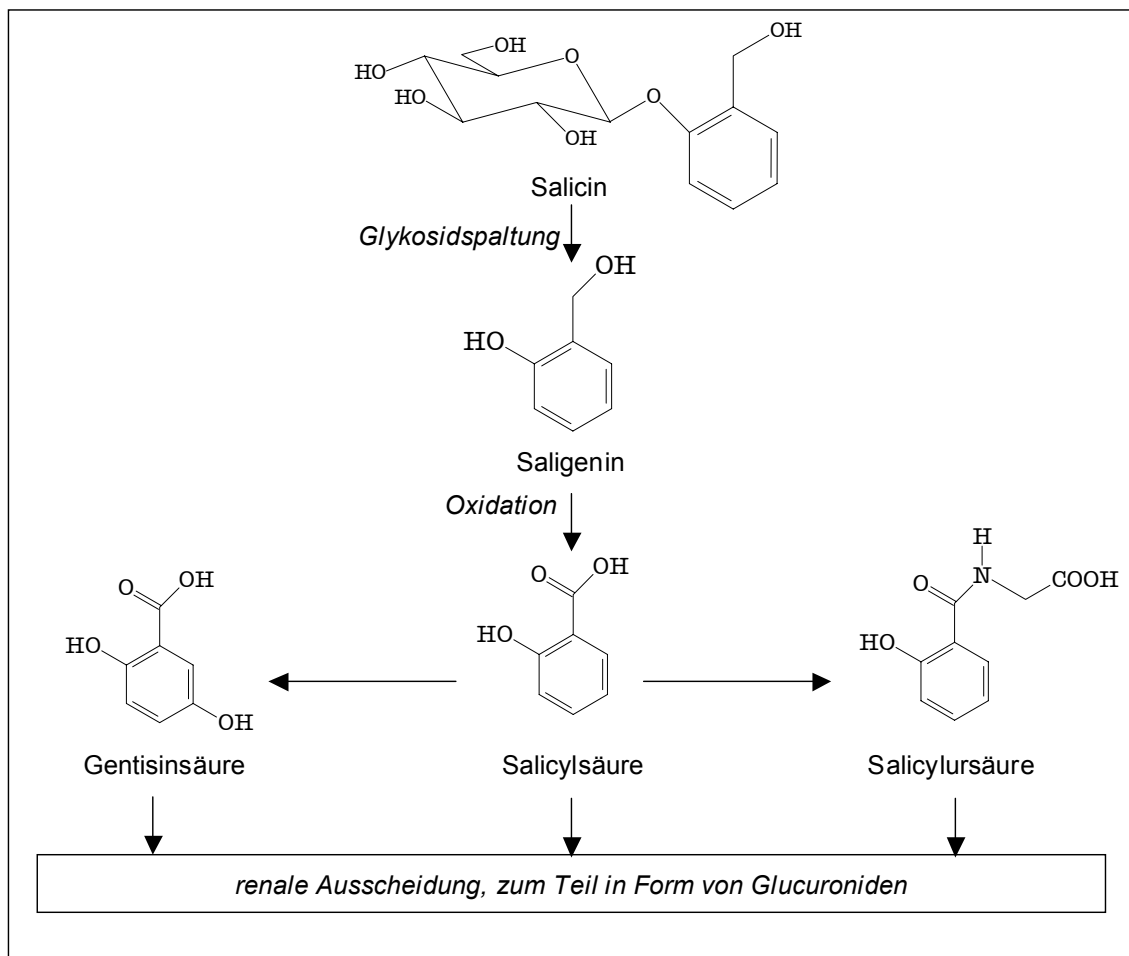


Abbildung 1: Metabolisierung von Salicin, modifiziert nach [Schmid et al. 2001]

2.1.4 *Pharmakokinetische Untersuchungen*

Die Pharmakokinetik der aus Salicin entstehenden Salicylate ist durch neuere Untersuchungen gut dokumentiert. Eine entsprechende Probandenstudie unter Einnahme eines Weidenrindenpräparates wurde von Schmid et al. [2001] durchgeführt. Im Abstand von 3 Stunden nahmen 10 gesunde Probanden zweimal je 680 mg standardisierten Weidenrindenextrakt in Form von Dragees ein, entsprechend 2 x 120 mg Salicin. Als Hauptmetabolit des Salicins wurde Salicylsäure im Serum nachgewiesen (86% der Gesamtsalicylate), neben geringen Mengen an Salicylursäure (10%) und Gentisinsäure (4%) (Abbildung 1). Salicin oder das Aglykon Saligenin (Salicylalkohol) traten im Serum nicht auf, das heißt, es erfolgte vor oder während der Resorption eine Glykosidspaltung des Salicins und eine Oxidation des entstehenden Saligenins zur Salicylsäure. Die anschließende Metabolisierung und Elimination verlief analog zu synthetischen Salicylaten, d.h. die Ausscheidung erfolgte renal in Form von Salicylursäure (71%), Salicylsäure (15%) und Gentisinsäure (14%) (Abbildung 1). Die Bioverfügbarkeit des Salicins in Form von Salicylsäure, berechnet aus der AUC (area under the curve) der Serumkonzentrations-Zeit-Kurve, wurde mit 43,3% ermittelt, deutlich höher als die von Pentz et al. [1989] beobachtete Bioverfügbarkeit von Salicin aus einem Weidenrinden-Colasamen-Kombinationspräparat. Es ist daher wahrscheinlich, dass die Extraktzusammensetzung und die pharmazeutische Formulierung von Weidenrindenpräparaten die Bioverfügbarkeit stark beeinflussen. Schmid et al. [2001] berechneten, dass die AUC der Salicylsäurederivate nach Einnahme von Weidenrindenextrakt (240 mg Salicin) bioäquivalent ist zur AUC nach Einnahme von 87 mg Acetylsalicylsäure. Daher sind die nach der Einnahme therapeutischer Dosen Weidenrindenextrakt erhaltenen Salicylatkonzentrationen zu niedrig, um eine analgetische Wirkung zu erklären. Dies legt den Schluss nahe, dass die im Weidenrindenextrakt enthaltenen Salicinverbindungen nicht allein für die Wirksamkeit verantwortlich sind. Andere Substanzen könnten zur Wirkung beitragen.

In der Literatur findet sich häufig die These, dass Salicin vor der Resorption durch die Darmflora hydrolysiert werden müsse [Wagner et al. 1995; Weiß et al. 1999]. Diese Aussage ist aus Versuchen am Tier, bzw. an isolierten Tierorganen, abgeleitet [Steinegger et al. 1972; Fötsch et al. 1989; Fötsch et al. 1990; Akao et al. 2002]. Bei Ratten wurden erst 5 bzw. 7 Stunden nach oraler Applikation von Salicin maximale Salicylsäurekonzentrationen im Blut gemessen [Fötsch et al. 1990; Akao et al. 2002]. Beim Menschen hingegen wurde nach Einnahme von Salicin [Steinegger et al. 1972] bzw. Weidenrindenextrakt [Pentz et al. 1989; Schmid et al. 2001] ein sehr viel rascheres Anfluten von Salicylsäure festgestellt. Das bedeutet, dass beim Menschen die Resorption nicht erst in den unteren Darmabschnitten stattfindet, sondern bereits im Magen oder in oberen Dünndarmabschnitten. Möglicherweise erfolgt die Salicin-spaltung und die Oxidation zur Salicylsäure während der Resorption durch die Darmschleimhaut. Bei der Biotransformation des Salicins liegen also vermutlich Unterschiede zwischen Tier und Mensch vor.

2.1.5 Pharmakologische Untersuchungen

2.1.5.1 In vitro-Untersuchungen

Zur Pharmakologie von Weidenrindenextrakt liegen nur wenige in vitro-Daten vor. In einem biologischen Entzündungsmodell, dem „Hen's Egg Chorioallantoic Membrane Test“, wurde für Tremulacin, Salicin und Saligenin eine entzündungshemmende Aktivität berichtet [Meier et al. 1990]. Meier et al. [1990] beobachteten für Salicin und Salicortin in vitro keine relevante Hemmung der Prostaglandinsynthese oder der Lipoxxygenase. In vitro-Untersuchungen mit Weidenrindenextrakt geben Hinweise auf eine Hemmung der COX-1- und COX-2-Aktivität, sowie auf eine Hemmung der Freisetzung proinflammatorischer Zytokine [Chrubasik et al. 2002a; März et al. 2002]. Die Ergebnisse dieser in vitro-Untersuchungen sind jedoch in ihrer Aussagekraft begrenzt, da sie zum Beispiel Resorptionsvorgänge und Metabolisierungen nicht berücksichtigen und die physiologischen Bedingungen nur unzureichend simulieren können.

2.1.5.2 Tierversuche

Leslie [1978] testete einen Weidenrindenextrakt aus *Salix purpurea* in entzündungsrelevanten Tiermodellen und berechnete ED₅₀-Werte („effective dose 50“), also die Dosierungen des flüssigen Extraktes (in Milliliter), die in dem entsprechenden Test eine 50-prozentige Verbesserung bewirkten. Die Aussagekraft der angegebenen ED₅₀-Werte ist jedoch äußerst begrenzt, da weder der Alkoholgehalt des Extraktionsmittels noch das Droge-Extrakt-Verhältnis angegeben sind.

Glinko [1998] untersuchte Weidenrindenextrakt und Acetylsalicylsäure (ASS) in Standard-Tiermodellen hinsichtlich ihrer analgetischen, antiinflammatorischen und antipyretischen sowie ihrer magenschleimhautschädigenden Wirkung. ASS wurde in Dosierungen von 100, 300 und 600 mg/kg Körpergewicht, Weidenrindenextrakt in Dosierungen von 60, 100 und 120 mg/kg Körpergewicht verabreicht. Leider ist der eingesetzte Weidenrindenextrakt nicht näher beschrieben (Weidenarten, Extraktionsmittel, Droge-Extrakt-Verhältnis, Salicingehalt). Im Hot Plate Test ergab sich eine signifikante Verlängerung der Zeit bis zur Schmerzreaktion nach Verabreichen von ASS oder Weidenrinde im Vergleich zu der Kontrollgruppe, die nur Wasser erhielt. Allerdings fehlt eine klare Dosisabhängigkeit des Effektes. So betrug die Verlängerung der Zeit bis zur Schmerzreaktion für die ASS-Dosierungen (100, 300 und 600 mg/kg Körpergewicht) 15, 12 und 18 Sekunden und für die Weidenrindendosierungen (60, 100 und 120 mg/kg Körpergewicht) 31, 10 und 15 Sekunden. Auffällig ist, dass die Verabreichung von Wasser in der Kontrollgruppe scheinbar zu einer erhöhten Schmerzempfindlichkeit führte, was auf methodische Probleme bei der Versuchsdurchführung hinweisen könnte. Nach Fieberinduktion durch Injektion von Bierhefe zeigte sich für ASS eine dosisabhängige antipyretische Wirkung, während für Weidenrinde nur vereinzelte Messungen eine statistisch signifikante

Fiebersenkung ergaben (eigene Berechnungen aus Messdaten von Glinko [1998]). Antiinflammatorische Effekte wurden am Carrageenin-induzierten Rattenpfotenödem untersucht. Da die Ausgangsdaten nicht angegeben sind, können Aussagen über eine Veränderung des Ödems durch Weidenrinden- oder ASS-Verabreichung nicht nachvollzogen werden.

Die Magentoxizität wurde fünf Stunden nach Verabreichung einer wässrigen Lösung von Weidenrindenextrakt oder ASS durch die visuelle Untersuchung der Magenschleimhaut beurteilt. Nach Verabreichung von Weidenrindenextrakt zeigten sich nur bei der höchsten Dosierung bei einzelnen Tieren leichte Veränderungen der Magenschleimhaut, die sich jedoch auf Hyperämie beschränkten. ASS verursachte hingegen sichtbare Läsionen und Ulzerationen der Magenschleimhaut.

Zusammengefasst deuten die beschriebenen Untersuchungen darauf hin, dass Weidenrindenextrakt keine oder eine nur geringe Magentoxizität aufweist. Die Untersuchungen zur Wirksamkeit des Weidenrindenextraktes müssten allerdings mit einem gut charakterisierten Extrakt unter genau kontrollierten Bedingungen reproduziert werden.

2.1.5.3 Untersuchungen zur Thrombozytenaggregation

Krivoy et al. [2001] untersuchten in einer klinisch-pharmakologischen Studie die Wirkungen eines standardisierten Weidenrindenextraktes (entsprechend 240 mg Salicin pro Tag) auf die Thrombozytenaggregation im Vergleich zu ASS (100 mg pro Tag) und Placebo. Nach 28 Behandlungstagen wurde die Thrombozytenaggregation nach Stimulation mit Arachidonsäure (500 µg/ml) bestimmt. In der Placebogruppe aggregierten 78% der Thrombozyten, in der Weidenrindengruppe 61% und in der ASS-Gruppe 13%. Die Thrombozytenaggregation wurde also durch ASS deutlich gehemmt, durch Weidenrinde jedoch nur wenig. Ob diese geringe Hemmung der Thrombozytenaggregation durch Weidenrinde eine klinisch relevante Nebenwirkung darstellt und zu Wechselwirkungen mit Antikoagulantien oder Thrombozytenaggregationshemmern führen kann, lässt sich derzeit nicht abschließend beantworten, ist aber wenig wahrscheinlich. Ein Einsatz von Weidenrinde als „pflanzlicher Thrombozytenaggregationshemmer“ ist hingegen eindeutig nicht möglich.

2.1.6 Klinische Wirksamkeit

Zur klinischen Wirksamkeit von Weidenrindenextrakt liegen neben mehreren anekdotischen Berichten [Stone 1763; Mayer et al. 1949; Bucher et al. 1987; Weyers 1992] und Studien mit pflanzlichen Kombinationspräparaten [Mills et al. 1996; Schaffner 1997] neuere Studien mit auf Salicin standardisierten Weidenrindenextrakten vor [Chrubasik et al. 2000; Schmid et al. 2000; Chrubasik et al. 2001a; Chrubasik et al. 2001b].

2.1.6.1 Klinische Wirksamkeit bei Arthrose

Schmid et al. [2000] untersuchten in einer randomisierten, placebo-kontrollierten Doppelblindstudie die analgetische Wirksamkeit eines standardisierten Weidenrindenextraktes bei Patienten mit Cox- bzw. Gonarthrose. Je 39 stationäre Patienten einer Rheumaklinik erhielten über 14 Tage entweder Weidenrindenextrakt entsprechend 240 mg Salicin pro Tag oder Placebo. Hauptzielkriterium war die Veränderung der Schmerzen, bestimmt durch einen international anerkannten und validierten Fragebogen (WOMAC = Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index [Bellamy et al. 1988]). Am Ende der zweiwöchigen Behandlungsphase war die Schmerzverringerung in der Weidenrindengruppe signifikant größer als in der Placebogruppe (geschätzter Unterschied: 0,65 cm, $p=0,047$; ANOVA). Die in dieser Studie gezeigte analgetische Wirksamkeit der Weidenrinde ist somit statistisch signifikant, allerdings ist der Therapieeffekt nicht sehr groß.

2.1.6.2 Klinische Wirksamkeit bei Rückenschmerzen

In einer randomisierten, placebo-kontrollierten, doppelblinden klinischen Studie untersuchten Chrubasik et al. [2000] die Wirksamkeit eines standardisierten Weidenrindenextraktes bei Patienten mit akuten Exazerbationen chronischer Rückenschmerzen. 210 Patienten erhielten während 4 Wochen entweder Placebo oder Weidenrindenextrakt entsprechend 120 oder 240 mg Salicin pro Tag (je 70 Patienten pro Behandlungsgruppe). Eine Schmerzintensität von mindestens 5 cm auf einer 10 cm langen visuellen Analogskala war als Einschlusskriterium gefordert. Hauptzielkriterium war der Anteil schmerzfreier Patienten in der vierten Behandlungswoche, definiert als diejenigen Patienten, die an mindestens 5 Tagen der letzten Behandlungswoche keine zusätzliche Schmerzmedikation (Tramadol) einnahmen und dabei nach eigenen Angaben schmerzfrei waren. Es wurde eine deutliche, statistisch signifikante, dosisabhängige Wirksamkeit des Weidenrindenextraktes berichtet. Der Anteil schmerzfreier Patienten in der vierten Behandlungswoche betrug 6% in der Placebogruppe, 21% in der niedriger dosierten und 39% in der höher dosierten Weidenrindengruppe.

In der gleichen Indikation verglichen Chrubasik et al. [2001b] standardisierten Weidenrindenextrakt mit dem COX-2 selektiven Hemmstoff Rofecoxib in einer offenen, randomisierten Studie. 228 Patienten nahmen über 4 Wochen täglich entweder Weidenrindenextrakt entsprechend 240 mg Salicin ($n=114$) oder Rofecoxib 12,5 mg ($n=114$) ein. Hauptzielkriterium war die Veränderung der Rückenschmerzen, die in einem modifizierten, validierten Fragebogen erfasst wurden (Arhus-Rückenschmerz-Index). In der Per-protocol-Auswertung betrug die Verbesserung des modifizierten Arhus-Indexes 21% in der Weidenrindengruppe und 22% in der Rofecoxib-Gruppe. Aus dem Fehlen eines statistisch signifikanten Unterschiedes zwischen den beiden Behandlungsgruppen ($p=0,76$) folgerten die Autoren therapeutische Äquivalenz. Allerdings waren das Design und die statistische Auswertung der Studie nicht auf den Nachweis einer Äquivalenz oder „Non-Inferiority“ ausgelegt [EMEA 2000].

Die Ergebnisse dieser Studie könnten außerdem durch das offene Design beeinflusst worden sein. Im Vergleich zu der oben beschriebenen placebo-kontrollierten Studie wurde in dieser verum-kontrollierten Studie kein Mindestschmerzwert gefordert. Entsprechend war die Schmerzintensität bei Studienbeginn nur halb so groß wie bei der vorhergehenden Studie, was das mögliche Auftreten signifikanter Unterschiede erschwerte. Die Ergebnisse dieser Studie müssten in einer doppelblinden Äquivalenzstudie bestätigt werden.

Ebenfalls in der Indikation akute Exazerbation chronischer Rückenschmerzen wurde eine offene, nicht-randomisierte Anwendungsbeobachtung durchgeführt [Chrubasik et al. 2001a]. Die drei Behandlungsgruppen erhielten entweder Weidenrindenextrakt entsprechend 240 mg Salicin pro Tag (n=112), Weidenrindenextrakt entsprechend 120 mg Salicin pro Tag (n=115) oder eine „konventionelle Behandlung“ ohne Weidenrinde, die verschiedene Therapiemöglichkeiten umfasste (n=224). Die Patienten der „konventionellen Therapiegruppe“ wurden von Orthopäden in ihrer Praxis rekrutiert und behandelt, wohingegen die Patienten der Weidenrindengruppen von Hausärzten rekrutiert und behandelt wurden. Ein- und Ausschlusskriterien, Behandlungsdauer (4 Wochen) und Zielkriterien waren analog der oben beschriebenen randomisierten Doppelblindstudie. Die Patienten durften während der Studie nach Belieben weitere medikamentöse und nicht-medikamentöse Behandlungen anwenden. 27% der Patienten in der höher dosierten und 4% der Patienten in der niedriger dosierten Weidenrindengruppe waren in der vierten Behandlungswoche ohne zusätzliche Therapien schmerzfrei, verglichen mit 18% in der „konventionellen Therapiegruppe“ (Intention-to-treat-Analyse, eigene Berechnung). Die Ergebnisse dieser Anwendungsbeobachtung bezüglich der Wirksamkeit sind aufgrund des offenen, nicht-randomisierten Designs nur wenig aussagekräftig. Auch der Vergleich der Therapiekosten ist zweifelhaft, da in der konventionell behandelten Gruppe vielfach teure Therapieformen verordnet wurden (Paravertebralanästhesie, manuelle Therapie, Elektrotherapie). NSAR hingegen wurden unverhältnismäßig wenig verordnet. Die Ergebnisse hierzu wurden in der Literatur kontrovers diskutiert [Ernst 2001; Chrubasik et al. 2002c].

2.1.7 Nebenwirkungen

In den in Abschnitt 2.1.6 genannten klinischen Studien wurden insgesamt 520 Patienten mit Weidenrindenextrakt behandelt. Tabelle 1 zeigt die Anzahl der aufgetretenen Nebenwirkungen in den Weidenrinden- und Vergleichsgruppen, wie sie den Publikationen zu entnehmen sind. Es fällt auf, dass die Zahl der dokumentierten Nebenwirkungen in Relation zur Zahl der Studienteilnehmer bei der stationär durchgeführten Studie von Schmid et al. [2000] erheblich höher lag als bei den ambulanten Studien von Chrubasik et al. [2000; 2001a; 2001b], was auf eine unterschiedliche Erfassung der Nebenwirkungen schließen lässt. In allen Studien war die Zahl der Nebenwirkungen unter Weidenrinde geringer als unter der Vergleichstherapie.

Tabelle 1: Anzahl der Nebenwirkungen unter Weidenrindenbehandlung und unter Vergleichstherapie, in Klammern die Anzahl der Patienten unter der jeweiligen Therapie

Studie	Nebenwirkungen Weidenrinde	Nebenwirkungen Vergleichstherapie	Nebenwirkungen gesamt
Schmid et al. [2000]	17 (39)	28 (39, Placebo)	45 (78)
Chrubasik et al. [2000]	3 (140)	6 (70, Placebo)	9 (210)
Chrubasik et al. [2001a]	9 (227)	10 (224, Verschiedenes)	19 (451)
Chrubasik et al. [2001b]	23 (114)	27 (114, Rofecoxib)	50 (228)
Gesamt	52 (520)	71 (447)	123 (967)

Gastrointestinale Reaktionen wurden insgesamt bei 4,2% der Patienten unter Weidenrinde und bei 8,3% der Patienten unter Vergleichstherapie beobachtet. Die Einnahme von Weidenrinde scheint demnach nicht mit einem erhöhten Risiko gastrointestinaler Nebenwirkungen verbunden zu sein. Hingegen zeichnet sich ein verstärktes Auftreten von Hautreaktionen unter Weidenrinde ab (2,9% versus 1,1% unter Vergleichstherapie). Alle aufgetretenen Hautreaktionen waren reversibel. Bei 1,3% der Studienpatienten unter Weidenrinde wurde die Studienmedikation wegen einer allergischen Hautreaktion abgesetzt.

2.1.8 Zusammenfassende Beurteilung der bisherigen Daten zur Weidenrinde

Weidenrindenpräparate sind in Deutschland auf Basis der Monographie der Kommission E [1984] zur Behandlung rheumatischer Beschwerden, fieberhafter Erkrankungen und Kopfschmerzen zugelassen. Mehrere randomisierte, klinische Studien deuten auf eine analgetische Wirksamkeit von standardisiertem Weidenrindenextrakt bei Arthrose [Schmid et al. 2000] und Rückenschmerzen [Chrubasik et al. 2000; Chrubasik et al. 2001b] hin. Der Weidenrindenextrakt erwies sich in den Studien als gut verträglich. Es gibt keine Anhaltspunkte für gastrointestinale Nebenwirkungen unter der Einnahme von Weidenrindenextrakt, jedoch ist ein gewisses allergisches Potenzial möglich. Hinweise auf eine analgetische Wirkung ergeben sich auch in tierexperimentellen Untersuchungen [Glinko 1998], die jedoch aufgrund einer fehlenden Dosisabhängigkeit des Effektes nur über eine eingeschränkte Aussagekraft verfügen. Unerforscht ist bislang, welche pharmakologischen Wirkmechanismen der beobachteten Wirksamkeit von standardisiertem Weidenrindenextrakt zugrunde liegen und welche Inhaltsstoffe für die Wirkung mitverantwortlich sind. Pharmakokinetische Untersuchungen konnten zeigen, dass die im Weidenrindenextrakt enthaltenen Salicinverbindungen eine Wirksamkeit alleine nicht erklären können [Schmid et al. 2001].

2.2 Pharmakologische Angriffspunkte bei Schmerz und Entzündung

2.2.1 Hemmung der Zyklooxygenase

Fast alle nicht-steroidalen Antirheumatika wirken über den erstmals 1971 von John Vane [1971] beschriebenen Mechanismus der Zyklooxygenase-Hemmung. Die Zyklooxygenase (Prostaglandin-G/H-Synthase) ist ein bifunktionelles, membran-gebundenes Enzym. Sie überführt die aus Membranphospholipiden freigesetzte Arachidonsäure in zwei Reaktionsschritten in Prostaglandin H_2 . Im ersten Reaktionsschritt, der Zyklooxygenase-Reaktion, entsteht durch eine Bisoxigenierung Prostaglandin G_2 , das in der sich anschließenden Peroxidase-Reaktion zu Prostaglandin H_2 reduziert wird. Das instabile Prostaglandin H_2 wird durch gewebs-spezifische Isomerasen zu Prostaglandinen, Prostacyclin und Thromboxan (Prostanoide) umgesetzt. Die Prostanoide vermitteln ihre Wirkung durch die Aktivierung spezifischer membranständiger G-Protein-gekoppelter Rezeptoren und übernehmen wichtige physiologische und pathophysiologische Funktionen. Nicht-steroidale Antirheumatika hemmen nur die Zyklooxygenasefunktion der Prostaglandin-G/H-Synthase, nicht aber die Peroxidasefunktion [FitzGerald et al. 2001].

2.2.1.1 Zyklooxygenase-Isoformen

In den frühen 1990er Jahren wurde gezeigt, dass die Zyklooxygenase in zwei verschiedenen Isoformen, COX-1 und COX-2, existiert [Fu et al. 1990; Xie et al. 1991]. Viele Erkenntnisse konnten in der Zwischenzeit über COX-1 und COX-2 gewonnen werden, jedoch sind hinsichtlich der physiologischen und pathophysiologischen Funktionen und deren pharmakologischer Beeinflussung noch viele Fragen offen [Hawkey 1999; Hinz et al. 2000a; Hinz et al. 2000b; FitzGerald et al. 2001; Funk 2001; Hinz et al. 2002; Leval et al. 2002]. Die Existenz einer COX-3 wurde erst kürzlich beschrieben [Chandrasekharan et al. 2002]. COX-1 und COX-2 werden von verschiedenen Genen kodiert und weisen in ihrer Aminosäuresequenz eine Homologie von ca. 60% auf. Weiterhin unterscheiden sich COX-1 und COX-2 hinsichtlich der Regulation der Expression, der Gewebeverteilung und der Funktion. Die COX-1 wird in den meisten Zelltypen konstitutiv exprimiert. Hohe Konzentrationen finden sich in Magen, Niere, Thrombozyten und Gefäßendothel. Durch COX-1 gebildete Prostanoide übernehmen eine Vielzahl physiologischer Funktionen und spielen eine wichtige Rolle bei der Mukosaprotektion des Gastrointestinaltraktes, der Nierendurchblutung und der Thrombusbildung. Bei COX-2 handelt es sich um ein induzierbares Enzym, das im Zusammenhang mit Entzündungen und Gewebeschädigungen gebildet wird. Die Induktion von COX-2 erfolgt durch verschiedene Stimuli (z.B. Lipopolysaccharide, Zytokine oder Wachstumsfaktoren) und wurde unter anderem für Makrophagen, Monozyten und Synoviozyten beschrieben. Die COX-2 wird als die Isoform angesehen, die hauptsächlich für die Bildung von entzündungsfördernden

Prostanoiden verantwortlich ist. In manchen Geweben (z.B. Gehirn, Magen, Niere, Gefäßendothel) wird COX-2 jedoch auch konstitutiv exprimiert. Eine Beteiligung von COX-2 an der Regulation der Nierendurchblutung, der Angiogenese und der Uteruskontraktion bei Wehen wird vermutet. Bei der erst kürzlich beschriebenen COX-3 handelt es sich um eine Splice-Variante der COX-1, die in der mRNA ein zusätzliches Intron aufweist [Chandrasekharan et al. 2002]. COX-3 wurde in hohen Konzentrationen in der Großhirnrinde und im Herz bestimmt. Wie COX-1 und COX-2 besitzt auch COX-3 Zyklooxygenase-Aktivität. Die physiologischen Funktionen der COX-3 sind noch weitgehend unerforscht. In vitro-Untersuchungen deuten auf eine Hemmung der COX-3 durch analgetisch und antipyretisch wirksame Arzneimittel wie Paracetamol hin [Chandrasekharan et al. 2002].

2.2.1.2 Bestimmung und Definition der COX-2-Selektivität

Der Wirkmechanismus nicht-steroidaler Antirheumatika beruht auf einer Hemmung der Zyklooxygenase und einer dadurch verringerten Prostaglandinsynthese. Dabei hemmen die verschiedenen Substanzen die Isoenzyme in unterschiedlichem Ausmaß. Während die klassischen NSAR in therapeutischer Dosierung sowohl COX-1 als auch COX-2 hemmen, hemmen die sogenannten Coxibe überwiegend COX-2 [FitzGerald et al. 2001]. In in vitro-Assays können NSAR hinsichtlich ihrer Hemmwirkung auf COX-1 und COX-2 untersucht werden. Als Standardtestsystem wird der humane Vollblutassay betrachtet [Brooks et al. 1999; Hinz et al. 2000a; Hinz et al. 2000b; Hinz et al. 2002]. Die relative Potenz hinsichtlich der COX-1- und COX-2-Hemmung wird üblicherweise als IC_{50} -Wert angegeben; das ist die Konzentration, die eine 50-prozentige Enzymhemmung bewirkt. Das Verhältnis der COX-1- zur COX-2-Hemmung wird als Quotient der IC_{50} -Werte für COX-1 und COX-2 angegeben, wobei eine Zahl größer als 1 eine stärkere COX-2-Hemmung anzeigt. Diese IC_{50} -Quotienten (COX-1/COX-2) variieren auch in vergleichbaren Testsystemen (humaner Vollblutassay) beträchtlich (Tabelle 2). In der Literatur findet sich keine Definition einer COX-2-Selektivität auf der Grundlage des IC_{50} -Quotienten. Die Teilnehmer einer Konsensuskonferenz schlugen folgende Definition vor: Eine Substanz ist dann COX-2-selektiv, wenn sie über den gesamten therapeutischen Dosisbereich die COX-2, nicht aber die COX-1, hemmt [Brooks et al. 1999]. Dabei wird empfohlen, die Hemmwirkungen auf COX-1 und COX-2 nach oraler Einnahme der Substanzen durch gesunde Probanden ex vivo im humanen Vollblutassay zu untersuchen. Damit trägt diese Definition der begrenzten Korrelation der in vitro-Daten mit ex vivo-Daten Rechnung [Blain et al. 2002]. Am häufigsten wird die gerinnungsinduzierte Thromboxan B_2 -Synthese (als Maß für die COX-1-Aktivität) und die LPS-stimulierte PGE_2 -Synthese (als Maß für die COX-2-Aktivität) im Vollblut der Probanden bestimmt [Patrono et al. 1980; Patrignani et al. 1994; Brideau et al. 1996]. Zwei firmengesponsorte Studien berichteten für Rofecoxib und Celecoxib eine COX-2-selektive Hemmung, da selbst nach Verabreichung suprathérapeutischer Dosen (600 mg Celecoxib, 1000 mg Rofecoxib) keine Hemmwirkung auf die COX-1

im Vollblutassay ex vivo nachweisbar war [Ehrich et al. 1999; Leese et al. 2000; Hinz et al. 2002]. Eine firmenunabhängige Studie berichtete hingegen für Celecoxib eine moderate, aber signifikante Hemmung der COX-1-Aktivität nach oraler Einnahme von 800 mg [McAdam et al. 1999; Hinz et al. 2002]. Meloxicam hemmte nach Verabreichung therapeutischer Dosen COX-1 signifikant [Tegeder et al. 1999].

Tabelle 2: Verhältnis der COX-1- zur COX-2-Hemmung (Quotient $IC_{50\ COX-1}$ und $IC_{50\ COX-2}$) für einige NSAR, bestimmt in vitro im humanen Vollblutassay (Literaturdaten). Eine Zahl größer als 1 kennzeichnet eine Substanz, die eine vergleichsweise stärkere COX-2-Hemmung zeigt.

	Indo- methacin	Ibu- profen	Mel- oxicam	Diclo- fenac	Cele- coxib	Rofe- coxib
Brideau et al. [1996]	0,35	<0,16		2,80		
Patrignani et al. [1997]	1,90	0,50	11,16	18,90		
Cryer et al. [1998]	0,57	0,6		26		
Warner et al. [1999]	0,013	1,1	2,7	2,0	1,4	76,9
Chan et al. [1999]	0,4		2,0	3,0	6,6	35,5
Riendeau et al. [2001]	0,4	0,2	2,0	3,0	7,6	35

2.2.2 Hemmung der Zytokin-Freisetzung

Neben der Zyklooxygenase-Hemmung stellt die Hemmung der Freisetzung von Zytokinen wie Tumornekrosefaktor α und Interleukin-1 β einen wichtigen Ansatz bei der Behandlung von Schmerz und Entzündung dar. Zytokine spielen bei der Pathogenese vieler entzündlicher Erkrankungen eine wichtige Rolle, z.B. bei Rheumatoider Arthritis [Lorenz et al. 1999; Dayer 2002], bei Sepsis [Bochud et al. 2003], bei entzündlichen Darmerkrankungen [Rogler et al. 1998] oder atherosklerotischen Herz-erkrankungen [Dinarello et al. 2001].

Zytokine sind Proteine (Molekulargewicht 7-60 kD), die von fast allen kernhaltigen menschlichen Zellen gebildet werden. Über autokrine, parakrine oder endokrine Prozesse sind sie wesentlich an der Regulation von Entzündungs- und Immunreaktionen beteiligt. Die meisten für Zytokine codierenden Gene werden nur nach Stimulation durch Noxen exprimiert [Dinarello 2000]. Hinsichtlich ihrer biologischen Wirkung sind Zytokine pleiotrop (ein Zytokin hat mehrere verschiedene Wirkungen) und redundant (verschiedene Zytokine haben gleiche Wirkungen). In Bezug auf ihre Wirkung auf Entzündungsprozesse können Zytokine in proinflammatorische und anti-inflammatorische Zytokine unterteilt werden. Tumornekrosefaktor α (TNF α) und Interleukin-1 β (IL-1 β) zählen zu den wichtigsten proinflammatorischen Zytokinen [Asadullah et al. 1997]. Sie werden vor allem von Monozyten und Makrophagen, aber auch von B-Zellen, aktivierten T-Zellen und

Endothelzellen gebildet [Choy et al. 2001]. TNF α und IL-1 β stimulieren die Expression der Phospholipase A₂, der COX-2, der induzierbaren NO-Synthase, von endothelialen Adhäsionsmolekülen und von Chemokinen. Dadurch steigern sie die Bildung von Prostaglandin E₂ (PGE₂), Plättchen-aktivierendem Faktor (PAF), Leukotrienen und Stickstoffmonoxid und fördern die Adhäsion von Leukozyten an das Gefäßendothel und deren Einwanderung in das entzündete Gewebe. In Bezug auf Schmerz ist vor allem der Anstieg von PGE₂ entscheidend [Dinarello 2000].

In den letzten Jahren wurden mehrere Hemmstoffe von TNF α und IL-1 β entwickelt und zur Therapie chronisch-entzündlicher Erkrankungen zugelassen: das lösliche TNF-Rezeptorfusionsprotein Etanercept, die monoklonalen Antikörper gegen TNF α Infliximab und Adalimumab und der rekombinante humane IL-1-Rezeptorantagonist Anakinra. Diese „biologischen“ Hemmstoffe (englisch: biologicals) haben in klinischen Studien ihre Wirksamkeit gezeigt [Pincus et al. 2002]. Auch altbekannte antiinflammatorische Wirkstoffe greifen in das Zytokinnetzwerk ein: So hemmen Glukokortikoide die Aktivierung des Transkriptionsfaktors NF κ B, einem wesentlichen intrazellulären Vermittler der Wirkung von z.B. TNF α und IL-1 β . Ciclosporin hemmt die Synthese wesentlicher T-Lymphozyten-Zytokine [Volk et al. 2000].

2.3 Rheumatoide Arthritis

2.3.1 *Definition*

Die Rheumatoide Arthritis (RA) ist eine chronische, unter Umständen remittierend oder schubweise verlaufende entzündliche, destruierende Gelenkerkrankung (Synovialitis) mit möglichen Manifestationen außerhalb des Bewegungsapparates. Charakteristisch sind Schwellungen, Schmerzen, Bewegungseinschränkungen und Deformierungen mehrerer peripherer Gelenke mit häufig symmetrischem Befall [Deutsche Gesellschaft für Rheumatologie 2000].

Die Diagnose der Rheumatoiden Arthritis beruht auf einer Kombination klinischer, serologischer und radiologischer Merkmale. Allgemein anerkannt sind die Diagnosekriterien des American College of Rheumatology (früher American Rheumatism Association, ARA) von 1987 [Arnett et al. 1988]. Dabei müssen mindestens 4 der 7 Kriterien erfüllt sein, und die Kriterien 1. bis 4. müssen für mindestens 6 Wochen bestanden haben:

1. Morgensteifigkeit von mindestens einer Stunde Dauer
2. Arthritis von drei oder mehr Gelenkregionen
3. Arthritis der Hand
4. Symmetrische Arthritis
5. Rheumaknoten (subkutane Knoten)
6. Rheumafaktor im Serum nachweisbar
7. Radiologische Veränderungen (Hand und Handgelenke)

2.3.2 Epidemiologie

Die Angaben epidemiologischer Studien zur Inzidenz der Rheumatoiden Arthritis variieren beträchtlich und werden mit 26-75 Neuerkrankungen pro 100.000 Menschen pro Jahr angegeben [Gabriel 2001]. Die Prävalenz beträgt 0,5 – 1% der erwachsenen Bevölkerung, wobei Frauen etwa 2-3 mal häufiger betroffen sind als Männer. Trotz umfangreicher Forschungsarbeiten ist die Ätiologie der Rheumatoiden Arthritis unbekannt. In epidemiologischen Studien wurden mehrere Risikofaktoren berichtet [Sangha 2000; Symmons et al. 2000; Gabriel 2001]. Viele Daten sprechen für einen Zusammenhang zwischen bestimmten MHC-Klasse-II-Genprodukten (z.B. HLA-DR4 und HLA-DR1) und Rheumatoider Arthritis [Jawaheer et al. 2002]. Die These einer genetischen Prädisposition wird auch durch Untersuchungen an Zwillingspaaren unterstützt [Symmons et al. 2000]. Als weitere Risikofaktoren werden Infektionen und Rauchen genannt. Östrogenen wird häufig eine protektive Rolle in der Ätiologie der RA zugeschrieben, jedoch wird dieser Effekt kontrovers diskutiert [Gabriel 2001]. RA-Patienten haben eine deutlich verkürzte Lebenserwartung. Nach dem Beginn der RA verkürzt sich die verbleibende Lebenserwartung um ca. 15-20% [Zink et al. 2001]. Die erhöhte Mortalität lässt sich hauptsächlich auf Organmanifestationen und Therapiekomplicationen zurückführen [Zink et al. 2001]. Die ökonomischen Auswirkungen der Rheumatoiden Arthritis sind erheblich, sowohl durch direkte (Therapiekosten) als auch durch indirekte Kosten (längere Arbeitsunfähigkeitszeiten und frühere Berentung im Vergleich zur Normalbevölkerung) [Sangha 2000; Zink et al. 2001; Bräuer et al. 2002].

2.3.3 Pathogenese

Pathophysiologisch liegt der RA eine chronische Entzündung der Synovialmembran (Gelenkinnenhaut) zugrunde, die zu einer Proliferation dieses lockeren, zellreichen Bindegewebes führt. Diese für die Rheumatoide Arthritis charakteristische entzündete, proliferierende Synovialmembran nennt man Pannus. Der Pannus infiltriert Knorpel und Knochenoberflächen und bewirkt erosive Veränderungen, die letztlich zur Gelenkzerstörung führen [Schuna 2002]. An den entzündlichen und destruktiven Prozessen sind T-Zellen, Zytokine wie TNF α und IL-1 β , Chemokine, Adhäsionsmoleküle und Matrix-Metalloproteinasen beteiligt, die alle im Pannus in höheren Konzentrationen nachweisbar sind [Lee et al. 2001]. Welche Faktoren die Entzündung auslösen, ist bislang unbekannt (vgl. Abschnitt 2.3.2). Das gehäufte Vorkommen von CD4-T-Zellen im Pannus und der mögliche Zusammenhang zwischen RA und bestimmten MHC-II-Proteinen führten zur Hypothese eines bisher unbekanntem auslösenden Antigens [Choy et al. 2001]. Die Beobachtung, dass Autoantikörper häufig bei RA auftreten, legt eine bedeutende Rolle von B-Lymphozyten nahe [Jenkins et al. 2002]. Die bekanntesten Autoantikörper, sogenannte Rheumafaktoren, richten sich gegen die Fc-Region von IgG-Immunglobulinen und sind bei ca. 80% der RA-Patienten nachweisbar [Genth 1993; Mierau et al. 1998]. Sie sind

weder spezifisch noch ursächlich für die RA, sind jedoch häufig mit einem aggressiveren Krankheitsverlauf verbunden [Schuna 2002].

2.3.4 Therapie

2.3.4.1 Therapierichtlinien

Ziel der RA-Behandlung ist es, die Gelenkzerstörung und den Funktionsverlust zu verhindern oder zu verzögern sowie Schmerzen zu lindern. Die therapeutischen Möglichkeiten umfassen eine medikamentöse Therapie mit Basistherapeutika, Glukokortikoiden und nicht-steroidalen Antirheumatika (NSAR), physikalische Therapien und chirurgische Eingriffe. Abbildung 2 zeigt schematisch die Therapieempfehlungen des American College of Rheumatology von 2002.

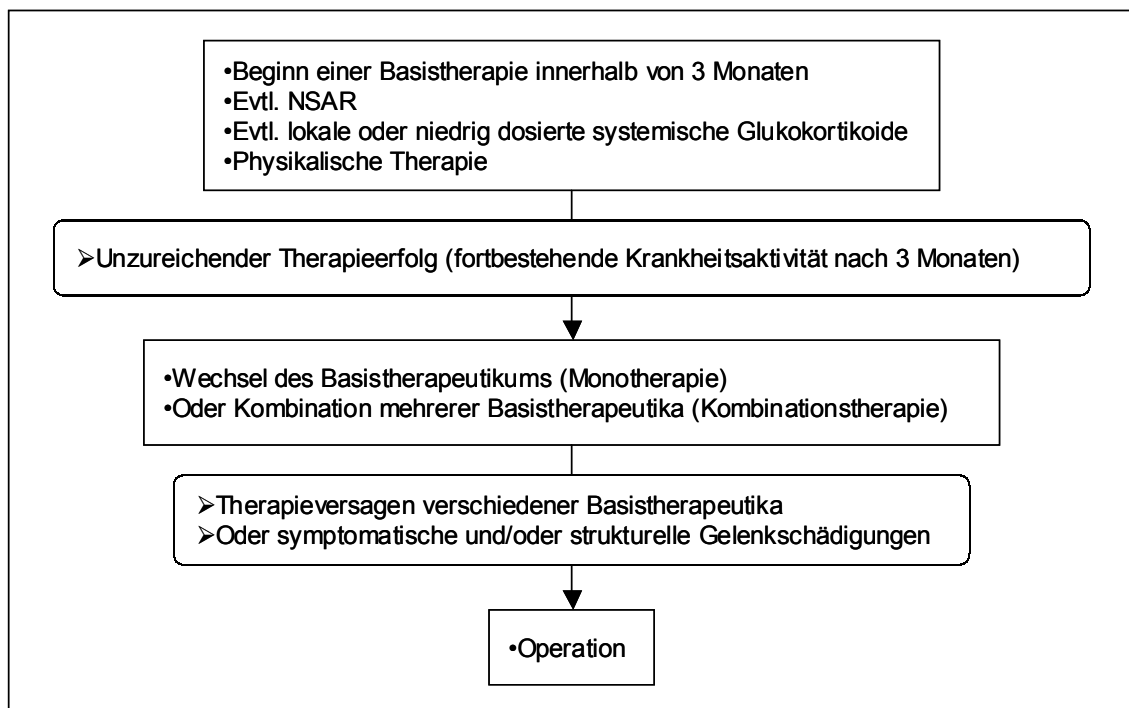


Abbildung 2: Therapieschema für die Behandlung der Rheumatoiden Arthritis, modifiziert nach [American College of Rheumatology 2002]

Danach sollte eine Therapie mit Basistherapeutika innerhalb von drei Monaten nach der Diagnosestellung initiiert werden. Den Basistherapeutika kommt in der Therapie ein besonderer Stellenwert zu, da sie den Krankheitsfortschritt und die Gelenkzerstörung aufhalten oder zumindest verlangsamen können [Deutsche Gesellschaft für Rheumatologie 2000; American College of Rheumatology 2002]. Zusätzlich zur Basistherapie können Glukokortikoide und NSAR zur Symptomlinderung (Reduktion von Entzündung und Schmerzen) in Betracht gezogen werden. Dabei existieren bezüglich der Auswahl der NSAR keine allgemeinen

Empfehlungen; sie orientiert sich an der individuellen Wirksamkeit und Verträglichkeit, der Wirkungsdauer (Halbwertszeit) und Kostenaspekten. Auch für den Einsatz selektiver COX-2-Inhibitoren sprechen die Fachgesellschaften keine eindeutigen Empfehlungen aus, legen jedoch die Verwendung bei Patienten mit einem erhöhten Risiko für gastrointestinale Komplikationen nahe [Deutsche Gesellschaft für Rheumatologie 2001; American College of Rheumatology 2002]. Die medikamentöse Therapie kann durch physikalische Therapien ergänzt werden. Im Fall einer fortbestehenden Krankheitsaktivität nach dreimonatiger Therapie sollte ein anderes Basistherapeutikum ausgewählt oder mehrere Basistherapeutika kombiniert werden. Bei Patienten, die auf verschiedene Basistherapeutika nicht ansprechen oder die unter sehr starken Schmerzen, Bewegungsverlusten oder Funktionseinschränkungen leiden, können chirurgische Maßnahmen erwogen werden.

2.3.4.2 Bestimmung der Krankheitsaktivität in klinischen Studien

Zur Beurteilung der Krankheitsaktivität in klinischen Studien bei Patienten mit Rheumatoider Arthritis existieren international anerkannte Zielkriterien [Felson et al. 1993; Boers et al. 1994]. Diese Zielkriterien wurden vom American College of Rheumatology und der WHO/ILAR vorgeschlagen und werden von der FDA [1999] und der EMEA [2002] für klinische Arzneimittelstudien bei Rheumatoider Arthritis empfohlen. Danach sollen folgende Zielkriterien verwendet werden:

1. Anzahl druckschmerzhafter Gelenke (68- oder 28-Joint-Count)
 2. Anzahl geschwollener Gelenke (66- oder 28-Joint-Count)
 3. Schmerzen (VAS oder Likert-Skala)
 4. Gesamtbeurteilung der Krankheitsaktivität durch den Patienten (VAS oder Likert-Skala)
 5. Gesamtbeurteilung der Krankheitsaktivität durch den Arzt (VAS oder Likert-Skala)
 6. Körperliche Funktionsfähigkeit (Patientenfragebogen)
 7. Akutphasereaktanten (BSG oder CRP)
- Bei Studien mit Beobachtungszeitraum > 1 Jahr:
8. Röntgenaufnahmen der Gelenke

Als zusammengesetztes Zielkriterium zur Definition einer „Verbesserung“ in klinischen Studien bei RA-Patienten hat sich eine 20-prozentige Verbesserung in den genannten Zielkriterien durchgesetzt (ACR-20-Response) [Felson et al. 1995]: Mindestens 20% Verbesserung in 5 der Kriterien 1. - 7., davon 1. und 2. zwingend. Die Bestimmung der ACR-20-Response unterscheidet mit hoher statistischer Power zwischen wirksamen Therapien und Placebo und ermöglicht den Vergleich der Ergebnisse verschiedener Studien [Felson et al. 1998; Pincus et al. 1999].

2.3.4.3 Wirksamkeit nicht-steroidaler Antirheumatika bei Rheumatoider Arthritis

Nicht-steroidale Antirheumatika (NSAR) spielen bei der symptomatischen Behandlung der RA eine wichtige Rolle und werden in Deutschland von jedem zweiten RA-Patienten angewendet [Zink et al. 2002]. In Deutschland ist das mit Abstand am häufigsten verordnete nicht-steroidale Antirheumatikum Diclofenac, es folgen Ibuprofen, Rofecoxib, Celecoxib, Indometacin und Piroxicam [Böger et al. 2003].

Tabelle 3: Übersicht über klinische Studien mit nicht-steroidalen Antirheumatika bei Rheumatoider Arthritis

Studie Studiendauer	Intervention	Anzahl Patienten	Schmerz- VAS (cm) Studienende - Baseline	Schmerz- veränderung im Vergleich zu Placebo	ACR-20- Responder
Emery et al. [1999] 24 Wochen	Celecoxib 200 mg 2xtgl.	326	0,66	keine Placebo- Gruppe	25%
	Diclofenac 75 mg 2xtgl.	329	0,86		22%
Simon et al. [1999] 12 Wochen	Celecoxib 100 mg 2xtgl.	240	1,69	0,76	40%
	Celecoxib 200 mg 2xtgl.	235	2,07	1,14	44%
	Celecoxib 400 mg 2xtgl.	217	1,81	0,88	39%
	Naproxen 500 mg 2xtgl.	225	1,69	0,76	36%
	Placebo	231	0,93		29%
Simon et al. [1998] 4 Wochen	Celecoxib 200 mg 2xtgl.	82	keine Angaben	keine Angaben	51%
	Celecoxib 400 mg 2xtgl.	82			52%
	Placebo	85			29%
Geusens et al. [2002] 12 Wochen	Rofecoxib 25 mg/Tag	306	keine Angaben	0,81 [†]	keine Angaben
	Rofecoxib 50 mg/Tag	286		1,06 [†]	
	Naproxen 500 mg 2xtgl.	142		1,17 [†]	
	Placebo	289			
Schnitzer et al. [1999] 8 Wochen	Rofecoxib 25 mg/Tag	171	2,4*	0,7	48%
	Rofecoxib 50 mg/Tag	161	2,5*	0,8	53%
	Placebo	168	1,7*		35%
Bensen et al. [2002] 12 Wochen	Valdecoxib 10 mg/Tag	209	2,51 [‡]	1,52 [‡]	49%*
	Valdecoxib 20 mg/Tag	212	2,28 [‡]	1,29 [‡]	48%*
	Valdecoxib 40 mg/Tag	221	2,76 [‡]	1,77 [‡]	46%*
	Naproxen 500 mg 2xtgl.	226	2,55 [‡]	1,56 [‡]	44%*
	Placebo	222	0,99 [‡]		32%*
Matsumoto et al. [2002] 12 Wochen	Etoricoxib 90 mg/Tag	323	2,72 [†]	1,58 [†]	58%
	Naproxen 500 mg 2xtgl.	170	2,05 [†]	0,91 [†]	47%
	Placebo	323	1,14 [†]		27%

* Werte aus graphischer Darstellung ermittelt

[†] zeitgewichtete durchschnittliche Veränderung vom Baseline-Wert über 12 Wochen

[‡] ANCOVA, Prüfbereich und Baseline-Wert als Kovariablen

Tabelle 3 gibt eine Übersicht über klinische Studien mit NSAR bei Rheumatoider Arthritis, die in ihrem Design den geltenden Empfehlungen (siehe Abschnitt 2.3.4.2) entsprechen. Im Bereich der NSAR wurden in den letzten Jahren überwiegend Studien mit COX-2-Hemmern veröffentlicht. Dabei zeigten alle untersuchten Substanzen (Celecoxib, Rofecoxib, Valdecoxib und Etoricoxib) ihre Überlegenheit gegenüber Placebo in der Behandlung der Rheumatoiden Arthritis (Tabelle 3, [Garner et al. 2002a; Garner et al. 2002b]). Mit Ausnahme von Etoricoxib [Matsumoto et al. 2002] konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den neuen Präparaten und Standardantirheumatika wie Diclofenac oder dem in den USA viel verwendeten Naproxen nachgewiesen werden.

2.3.4.4 Nebenwirkungen nicht-steroidaler Antirheumatika

Die Anwendung nicht-steroidaler Antirheumatika (NSAR) ist bei einem nicht unerheblichen Prozentsatz der Patienten mit gastrointestinalen Komplikationen verbunden, die zu einer erhöhten Morbidität und Mortalität führen [Lichtenstein et al. 1995; Wolfe et al. 1999]. Die Entdeckung der COX-2 (Abschnitt 2.2.1.1) führte zu der Hypothese einer ausschließlich proinflammatorischen, induzierbaren COX-2-Isoform und einer physiologischen, konstitutiven COX-1-Isoform. Die Hemmung der COX-1 wurde für eine Vielzahl der unerwünschten NSAR-Wirkungen (vor allem gastrointestinale Ulzerationen und Blutungen) verantwortlich gemacht, während die Unterdrückung der COX-2-abhängigen Prostaglandinbildung als Basis der analgetischen, antiinflammatorischen und antipyretischen Wirkung angesehen wurde [Hinz et al. 2000b]. Dieses Konzept führte zur Entwicklung der Coxibe, die eine starke Präferenz für COX-2 aufweisen (Abschnitt 2.2.1.2). Während aussagekräftige Daten zur Wirksamkeit von COX-2-Hemmern vorliegen (Abschnitt 2.3.4.3), besteht hinsichtlich des Risikoprofils noch ein erheblicher Bedarf an klinischen Daten. Zwei große randomisierte klinische Studien mit jeweils ca. 8000 Patienten untersuchten das Auftreten gastrointestinaler Nebenwirkungen unter Rofecoxib (VIGOR-Studie) [Bombardier et al. 2000] und Celecoxib (CLASS-Studie) [Silverstein et al. 2000]. Die Daten der Rofecoxib-Studie ergaben weniger Ulzera und Ulkuskomplikationen unter Rofecoxib im Vergleich zu Naproxen (relatives Risiko 0,5; 95%-C.I.: 0,3 bis 0,6; mediane Beobachtungszeit: 9 Monate), allerdings scheint Naproxen mit einem vergleichsweise hohen Risiko für gastrointestinale Komplikationen verbunden zu sein [Henry et al. 1996]. Schwere kardiovaskuläre Ereignisse einschließlich Herzinfarkt traten unter Rofecoxib häufiger auf als unter Naproxen (relatives Risiko 0,2; 95%-C.I.: 0,1 bis 0,7), was in der Literatur zu kontroversen Diskussionen über kardiovaskuläre Risiken bei COX-2-Hemmern führte [Mukherjee et al. 2001; Strand et al. 2002]. Die publizierten 6-Monats-Daten der CLASS-Studie berichteten ebenfalls weniger Ulzera und Ulkuskomplikationen unter Celecoxib im Vergleich zu Diclofenac und Ibuprofen [Silverstein et al. 2000]. Die vollständigen Studiendaten mit Behandlungsdauern zwischen 6 und 13 Monaten (veröffentlicht auf der FDA Website [Witter 2000]) ließen hingegen keinen signifikanten Vorteil von Celecoxib mehr

erkennen [Hrachovec et al. 2001; Wright et al. 2001; Jüni et al. 2002]. Eine große retrospektive Kohortenstudie untersuchte das Auftreten gastrointestinaler Blutungen bei Patienten mit nicht-selektiven NSAR (n=5.391), Diclofenac plus Misoprostol (n=5.087), Rofecoxib (n=14.583), Celecoxib (n=18.908) und Patienten ohne NSAR (n=100.000) [Mamdani et al. 2002]. Die Beobachtungsdauer pro Patient betrug durchschnittlich 140 Tage. Die statistische Auswertung der Daten ergab ein im Vergleich zur Kontrollgruppe erhöhtes Risiko gastrointestinaler Blutungen für Patienten mit nicht-selektiven NSAR (adjusted rate ratio 4,0; 95%-C.I.: 2,3 bis 6,9), Diclofenac plus Misoprostol (3,0; 1,7 bis 5,6) und Rofecoxib (1,9; 1,3 bis 2,8), nicht aber für Patienten mit Celecoxib (1,0; 0,7 bis 1,6). Zusammengefasst machen die dargestellten Ergebnisse deutlich, dass die Sicherheit der COX-2-Hemmer mit den vorliegenden Daten nicht abschließend bewertet werden kann und dass das einfache Konzept der ausschließlich physiologischen COX-1 und der ausschließlich proinflammatorischen COX-2 wahrscheinlich nicht haltbar ist.

2.3.4.5 Phytopharmaka bei Rheumatoider Arthritis

Phytopharmaka spielen bei der Therapie der Rheumatoiden Arthritis eine sehr geringe Rolle. Verschiedene Studien deuten auf eine gewisse Wirksamkeit von sehr hohen Dosierungen Gammalinolensäure-haltiger pflanzlicher Öle aus Nachtkerzen-, Boretsch- und Johannisbeersamen hin [Ernst et al. 2000; Little et al. 2001; Chrubasik et al. 2002b]. Keines der genannten Öle ist in Deutschland zur Therapie der Rheumatoiden Arthritis zugelassen.

Zwei randomisierte, kontrollierte klinische Studien [Tao et al. 1989; Tao et al. 2002] zeigen eine Wirksamkeit eines Wurzelextraktes aus *Tripterygium wilfordii* bei Patienten mit Rheumatoider Arthritis. Bei *Tripterygium wilfordii* handelt es sich um eine sehr toxische Pflanze der traditionellen chinesischen Medizin aus der Familie der Celastraceae (Spindelbaumgewächse). Die neuere Studie entspricht in ihrem Design den geltenden Empfehlungen der internationalen Fachgesellschaften (Abschnitt 2.3.4.2). 8 von 10 Patienten der höher dosierten Gruppe (360 mg Extrakt pro Tag), 4 von 10 Patienten der niedriger dosierten Gruppe (180 mg Extrakt pro Tag) und keiner der 12 Placebo-Patienten erfüllten die Kriterien für eine ACR-20-Response. Durchfall, Haarausfall und Übelkeit waren häufig in den Verumgruppen.

Zu einem Harzextrakt von *Boswellia serrata* (H15[®]) liegt nur eine publizierte Studie bei Patienten mit Rheumatoider Arthritis vor, die keinen messbaren Effekt berichtete [Sander et al. 1998; Ammon 2002].

Eine Pilotstudie mit einem Wurzelextrakt aus *Uncaria tomentosa* (Katzenkralle, Familie Rubiaceae) bei Patienten mit Rheumatoider Arthritis ergab in 8 von 9 Zielkriterien keinen Unterschied zwischen der Verum- und der Placebogruppe [Mur et al. 2002].

2.3.4.6 Möglicher Stellenwert von Weidenrindenextrakt in der Behandlung der Rheumatoiden Arthritis

Etwa 50% aller Patienten mit Rheumatoider Arthritis sind, in der Regel ergänzend zu anderen Therapiemaßnahmen, auf nicht-steroidale Antirheumatika zur Linderung der Krankheitssymptome angewiesen [Zink et al. 2002]. Die Dauertherapie mit NSAR ist häufig mit Nebenwirkungen verbunden [Lichtenstein et al. 1995; Wolfe et al. 1999]. Weidenrindenextrakt zeigte in randomisierten, klinischen Studien bei Patienten mit Arthrose [Schmid et al. 2000] und Rückenschmerzen [Chrubasik et al. 2000; Chrubasik et al. 2001b] eine Linderung der Schmerzen und war dabei gut verträglich. Weidenrindenextrakt könnte in der Behandlung der Rheumatoiden Arthritis anstelle von NSAR eingesetzt werden, falls eine vergleichbare Reduktion von Schmerz und Entzündung nachweisbar wäre. Hierzu lagen zu Beginn dieser Arbeit keine Daten vor. Analog zur Anwendung von NSAR bei Rheumatoider Arthritis könnte auch eine mögliche Therapie mit Weidenrindenextrakt nur ergänzend zu einer Basistherapie in Betracht gezogen werden. In der Bevölkerung wird vielfach der Wunsch nach einer Therapie mit pflanzlichen Arzneimitteln geäußert. Eine repräsentative Umfrage in Deutschland ergab, dass für den Anwendungsbereich „Rheuma und Gliederschmerzen“ etwa die Hälfte der befragten Personen pflanzliche Arzneimittel bevorzugen [Brühl et al. 1997]. Ein pflanzliches Medikament mit guter Verträglichkeit und nachgewiesener Wirksamkeit wäre somit eine interessante Alternative zu NSAR in der symptomatischen Behandlung der Rheumatoiden Arthritis.

2.4 Zielsetzung der vorliegenden Arbeit

Zu Beginn dieser Arbeit lagen mehrere klinische Studien sowie Berichte aus tierexperimentellen Untersuchungen vor, die auf eine analgetische Wirksamkeit eines standardisierten Weidenrindenextraktes hindeuten. Es war jedoch unklar, welche pharmakologischen Wirkmechanismen der beobachteten analgetischen Wirksamkeit zugrunde liegen. Auch war bislang nicht näher untersucht worden, ob Weidenrindenextrakt auch bei entzündlichen rheumatischen Erkrankungen wirksam ist.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollten pharmakologische Untersuchungen zu möglichen Wirkmechanismen des Weidenrindenextraktes durchgeführt werden. In Anlehnung an den Wirkmechanismus der üblichen NSAR sollte insbesondere die Hemmwirkung auf die Aktivität der Enzyme Zyklooxygenase-1 und -2 sowie auf die Freisetzung der proinflammatorischen Zytokine Tumornekrosefaktor α und Interleukin-1 β untersucht werden. Durch die Verwendung von humanen Vollblut-assays sollten die physiologischen Bedingungen möglichst gut simuliert werden. In vitro-Untersuchungen, in denen der Weidenrindenextrakt den Testsystemen in verschiedenen Konzentrationen zugesetzt wird, sollten durch ex vivo-Untersuchungen, in denen die Wirkungen des Extraktes nach oraler Einnahme durch gesunde Probanden geprüft werden, ergänzt werden. Die Identifizierung eines Wirkmechanismus des Weidenrindenextraktes würde die Möglichkeit bieten, einzelne Inhaltsstoffe zu isolieren und auf ihre Wirkung in dem entsprechenden Testsystem zu untersuchen. Weiterhin könnte die Kenntnis eines Wirkmechanismus die positiven Ergebnisse klinischer Studien auch pharmakologisch erklärbar machen.

Weidenrindenextrakt ist in Deutschland, basierend auf der Monographie der Kommission E des früheren Bundesgesundheitsamtes, zur Behandlung rheumatischer Beschwerden zugelassen. Hinsichtlich der Wirksamkeit bei Rheumatoider Arthritis lagen jedoch zu Beginn dieser Arbeit keine gesicherten klinischen Daten vor. Es sollte daher eine randomisierte, placebo-kontrollierte, doppelblinde Pilotstudie durchgeführt werden, um eine erste Einschätzung der Wirksamkeit und Verträglichkeit eines standardisierten Weidenrindenextraktes bei Patienten mit Rheumatoider Arthritis zu erhalten. Die Pilotstudie sollte eine Aussage ermöglichen, ob größere klinische Studien in dieser Indikation erfolgversprechend sind.

3 Material und Methoden

3.1 Untersuchungen zur Pharmakologie

3.1.1 *Weidenrindenextrakt*

Der in den pharmakologischen Untersuchungen eingesetzte Weidenrindenextrakt wurde unter der Chargennummer 00120972 von der Firma Finzelberg in Andernach bezogen. Es handelt sich um einen Trockenextrakt aus der Rinde von *Salix daphnoides* aus deutschem Anbau, Auszugsmittel Ethanol 70 Vol.-%, Droge-Extrakt-Verhältnis 8-14:1. Die Extraktzubereitung besteht aus 97% nativem Extrakt und 3% technischem Hilfsstoff (hochdisperses Siliciumdioxid). Der Extrakt wurde umfassend analytisch charakterisiert [Biegert 2003]. Eine Analyse mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie ergab Salicin, Salicortin und das Phenolglykosid Picein als Hauptbestandteile. Nach alkalischer Hydrolyse wurde der Gesamtsalicingehalt mit 15,0% bestimmt [Meier et al. 1985].

3.1.2 *Chemikalien, Biochemikalien und Assay-Kits*

Chemikalien wurden vorwiegend von den Firmen Merck (Darmstadt) und Sigma-Aldrich (Steinheim) bezogen. Spezielle Chemikalien, Biochemikalien und Assay-Kits sind nachfolgend aufgelistet:

Tabelle 4: Spezielle Chemikalien, Biochemikalien und Assay-Kits

Bezeichnung	Hersteller
Chemikalien und Biochemikalien	
Calciumionophor A23187	Sigma-Aldrich, Steinheim
Celecoxib	Synthese nach Penning et al. [1997]
CremophorEL [®]	Fluka Chemie, Buchs
Histopaque [®] 1.077-Lösung	Sigma-Aldrich, Steinheim
LPS (<i>Escherichia coli</i> 026:B6)	Sigma-Aldrich, Steinheim
Macrophage-SFM-Medium [®]	Life Technologies, Eggenstein
Thromboxan-Synthase-Hemmstoff [(E/Z)-7-Phenyl-1-(3-pyridyl)-6-heptensäure]	Synthese nach Kato et al. [1985]
Trypanblau-Lösung 0,4%	Sigma-Aldrich, Steinheim
Assay-Kits	
Prostaglandin E ₂ Correlate-EIA Kit	Assay Desings, Ann Arbor, USA
TNF α Enzyme Immunoassay Kit	Immunotech, Marseille, Frankreich
IL-1 β Enzyme Immunoassay Kit	Immunotech, Marseille, Frankreich
Cell Proliferation Kit I (MTT)	Roche Diagnostics, Mannheim

3.1.3 Lösungen

Tabelle 5: Lösungen für den COX-1-Vollblutassay

DPBS-Puffer (Dulbecco's phosphate buffered saline)	
KH ₂ PO ₄	0,1 g
Na ₂ HPO ₄	0,575 g
KCl	0,1 g
NaCl	4,0 g
D-Glucose	0,5 g
Aqua bidest.	ad 500,0 ml
CremophorEL [®] /Ethanol-Lösung (7 mg/ml CremophorEL [®] im Testansatz)	
CremophorEL [®]	116,9 g
Ethanol 99%	50,0 g
CremophorEL [®] /DPBS-Puffer	
CremophorEL [®] /Ethanol-Lösung	1,0 ml
DPBS-Puffer	ad 10,0 ml
Thromboxan-Synthase-Hemmstoff (TSH)-Lösung (1 µM im Testansatz)	
TSH [E/Z-7-Phenyl-1-(3-pyridyl)-6-heptensäure]	1,4 mg
CremophorEL [®] /Ethanol-Lösung	ad 5,0 ml
Diese 10 ⁻³ M Stammlösung wird mit DPBS-Puffer 1:10 verdünnt.	
Calciumionophor A23187-Lösung (25 µM im Testansatz)	
Calciumionophor A23187	2,5 mg
Ethanol 99%	ad 1,0 ml

Tabelle 6: Lösungen für den COX-2-Vollblutassay

DPBS-Puffer (Dulbecco's phosphate buffered saline)	
siehe Tabelle 5	
CremophorEL [®] /Ethanol-Lösung (7 mg/ml CremophorEL [®] im Testansatz)	
siehe Tabelle 5	
Gentamicin/DPBS-Puffer	
Gentamicinsulfat	12,5 mg
DPBS-Puffer	ad 50,0 ml
CremophorEL [®] /Gentamicin/DPBS-Puffer	
CremophorEL [®] /Ethanol-Lösung	1,0 ml
Gentamicin/DPBS-Puffer	ad 10,0 ml
ASS-Lösung (10 µg/ml im Testansatz)	
ASS	2,0 mg
Gentamicin/DPBS-Puffer	ad 10,0 ml

Fortsetzung von Tabelle 6: Lösungen für den COX-2-Vollblutassay

LPS-Lösung (10 µg/ml im Testansatz)	
LPS (<i>Escherichia coli</i> 026:B6)	1,0 mg
Gentamicin/DPBS-Puffer	ad 5,0 ml
Thromboxan-Synthase-Hemmstoff (TSH)-Lösung (1 µM im Testansatz)	
TSH [E/Z-7-Phenyl-1-(3-pyridyl)-6-heptensäure]	1,4 mg
CremophorEL [®] /Ethanol-Lösung	ad 5,0 ml
Diese 10 ⁻³ M Stammlösung wird mit Gentamicin/DPBS-Puffer 1:10 verdünnt.	

Tabelle 7: Lösungen für den Zytokin-Vollblutassay

DPBS-Puffer (Dulbecco's phosphate buffered saline)	
siehe Tabelle 5	
CremophorEL [®] /Ethanol-Lösung (7 mg/ml CremophorEL [®] im Testansatz)	
siehe Tabelle 5	
Gentamicin/DPBS-Puffer	
siehe Tabelle 6	
CremophorEL [®] /Gentamicin/DPBS-Puffer	
siehe Tabelle 6	
LPS-Lösung (10 µg/ml im Testansatz)	
LPS (<i>Escherichia coli</i> 026:B6)	1,0 mg
Gentamicin/DPBS-Puffer	ad 10,0 ml

Tabelle 8: Lösungen für die Trypanblau-Färbung zur Zytotoxizitätsuntersuchung

DPBS-Puffer (Dulbecco's phosphate buffered saline)	
siehe Tabelle 5	
Isotonische Kochsalzlösung	
NaCl	4,5 g
Aqua bidest.	ad 500,0 ml
Gentamicin-Lösung	
Gentamicinsulfat	5,0 mg
Isotonische Kochsalzlösung	ad 1,0 ml
LPS-Lösung (1 µg/ml im Testansatz)	
LPS (<i>E. coli</i> 026:B6)	2,5 mg
Macrophage-SFM-Medium [®]	ad 50,0 ml
Diese Stammlösung wird mit Macrophage-SFM-Medium [®] 1:10 verdünnt.	

3.1.4 *In vitro*-Untersuchungen

3.1.4.1 Blutproben

Venöses Blut wurde bei drei gesunden, weiblichen Spendern mit deren Einverständnis entnommen. Die Spender wiesen keine entzündlichen Erkrankungen auf und hatten in den 7 Tagen vor der Blutabnahme keine Schmerzmittel oder NSAR eingenommen. Die Blutproben wurden in Heparin-Ammonium-Monovetten (Sarstedt, Nümbrecht) für die COX-1- und COX-2-Assays (27 ml pro Spender) und in Kalium-EDTA-Monovetten (Sarstedt, Nümbrecht) für die Zytokin-Assays (9 ml pro Spender) entnommen. Die ersten 3 ml jeder Blutabnahme wurden verworfen, um eine unspezifische Zellaktivierung durch Scherkräfte oder Gerinnungsprozesse zu verhindern. Die Blutabnahmen erfolgten in der Medizinischen Klinik des Universitätsklinikums Tübingen. Unmittelbar nach der Blutabnahme wurden die Monovetten ins Pharmazeutische Institut der Universität Tübingen gebracht und bis zur Verwendung im Assay bei 37°C / 350 rpm auf dem Schüttler gelagert.

3.1.4.2 Testsubstanzen

Folgende Testsubstanzen wurden in den *in vitro*-Vollblutassays eingesetzt: Weidenrindenextrakt (COX-1-, COX-2- und Zytokin-Assay), Diclofenac (COX-1-Assay), Celecoxib (COX-2-Assay) und Dexamethason (Zytokin-Assay).

Wegen der schweren Löslichkeit des Weidenrindenextraktes wurden die Testsubstanzen zunächst in CremophorEL[®]/Ethanol-Lösung (CremophorEL[®] ist ein polyethoxyliertes Ricinusölderivat) gelöst und anschließend 1:10 mit DPBS-Puffer (COX-1-Assay) bzw. Gentamicin/DPBS-Puffer (COX-2- und Zytokin-Assay) verdünnt. Der Zusatz von Gentamicin im COX-2- und Zytokin-Assay wurde vorgenommen, um eine bakterielle Verkeimung während der mehrstündigen Inkubationszeit zu verhindern. In allen Testsystemen wurden die Testlösungen 1:10 verdünnt, das heißt, die Ausgangskonzentrationen in den Testlösungen waren 10-fach höher als die Konzentrationen im Testansatz. Alle Testlösungen enthielten 10% CremophorEL[®]/Ethanol, entsprechend 0,7% CremophorEL[®] und 0,3% Ethanol im Testansatz. Folgende Hemmstoffkonzentrationen wurden im Testansatz untersucht: Weidenrindenextrakt 1000, 300, 100, 30 und 10 µg/ml, Diclofenac 10⁻⁵ bis 10⁻⁸ mol/l, Celecoxib 10⁻⁵ bis 10⁻⁷ mol/l, Dexamethason 10⁻⁶ bis 10⁻⁹ mol/l.

Die Testlösungen wurden folgendermaßen hergestellt:

Weidenrindenextrakt:

- 100 mg Weidenrindenextrakt wurden in 1 ml CremophorEL[®]/Ethanol-Lösung gelöst und mit DPBS-Puffer bzw. Gentamicin/DPBS-Puffer ad 10 ml aufgefüllt (Stammlösung 10.000 µg/ml, entsprechend 1000 µg/ml im Testansatz).

- 30 mg Weidenrindenextrakt wurden in 1 ml CremophorEL[®]/Ethanol-Lösung gelöst und mit DPBS-Puffer bzw. Gentamicin/DPBS-Puffer ad 10 ml aufgefüllt (Stammlösung 3000 µg/ml, entsprechend 300 µg/ml im Testansatz).
- Die Stammlösung 10.000 µg/ml wurde zur Herstellung der Konzentrationen 1000 µg/ml (100 µg/ml im Testansatz) und 100 µg/ml (10 µg/ml im Testansatz) zwei mal 1:10 mit CremophorEL[®]/DPBS-Puffer bzw. CremophorEL[®]/Gentamicin/DPBS-Puffer verdünnt.
- Die Stammlösung 3000 µg/ml wurde zur Herstellung der Konzentration 300 µg/ml (30 µg/ml im Testansatz) 1:10 mit CremophorEL[®]/DPBS-Puffer bzw. CremophorEL[®]/Gentamicin/DPBS-Puffer verdünnt.

Diclofenac

- 3,2 mg Diclofenac wurden in 1 ml CremophorEL[®]/Ethanol-Lösung gelöst und 1:10 mit DPBS-Puffer verdünnt (10^{-3} M Stammlösung).
- Zur Herstellung der Konzentrationen 10^{-4} bis 10^{-7} mol/l (entspricht 10^{-5} bis 10^{-8} mol/l im Testansatz) wurde die Stammlösung vier mal 1:10 mit CremophorEL[®]/DPBS-Puffer verdünnt.

Celecoxib

- 3,8 mg Celecoxib wurden in 1 ml CremophorEL[®]/Ethanol-Lösung gelöst und 1:10 mit Gentamicin/DPBS-Puffer verdünnt (10^{-3} M Stammlösung).
- Zur Herstellung der Konzentrationen 10^{-4} bis 10^{-6} mol/l (entspricht 10^{-5} bis 10^{-7} mol/l im Testansatz) wurde die Stammlösung drei mal 1:10 mit CremophorEL[®]/Gentamicin/DPBS-Puffer verdünnt.

Dexamethason

- 3,9 mg Dexamethason wurden in 1 ml CremophorEL[®]/Ethanol-Lösung gelöst und 1:10 mit Gentamicin/DPBS-Puffer verdünnt (10^{-3} M Stammlösung).
- Zur Herstellung der Konzentrationen 10^{-5} bis 10^{-8} mol/l (entspricht 10^{-6} bis 10^{-9} mol/l im Testansatz) wurde die Stammlösung fünf mal 1:10 mit CremophorEL[®]/Gentamicin/DPBS-Puffer verdünnt.

3.1.4.3 Methodik des Cox-1-Vollblutassays

Die von Laufer et al. [1997] beschriebene Methode zur Bestimmung der Hemmung der COX-1-Aktivität wurde zur Anwendung im Vollblut modifiziert. Abbildung 3 zeigt schematisch die Versuchsdurchführung. Basalwerte sind Proben ohne Hemmstoff und ohne Stimulans (Calciumionophor A23187), Stimulationswerte sind Proben ohne Hemmstoff, aber mit Stimulans (maximale Aktivität).

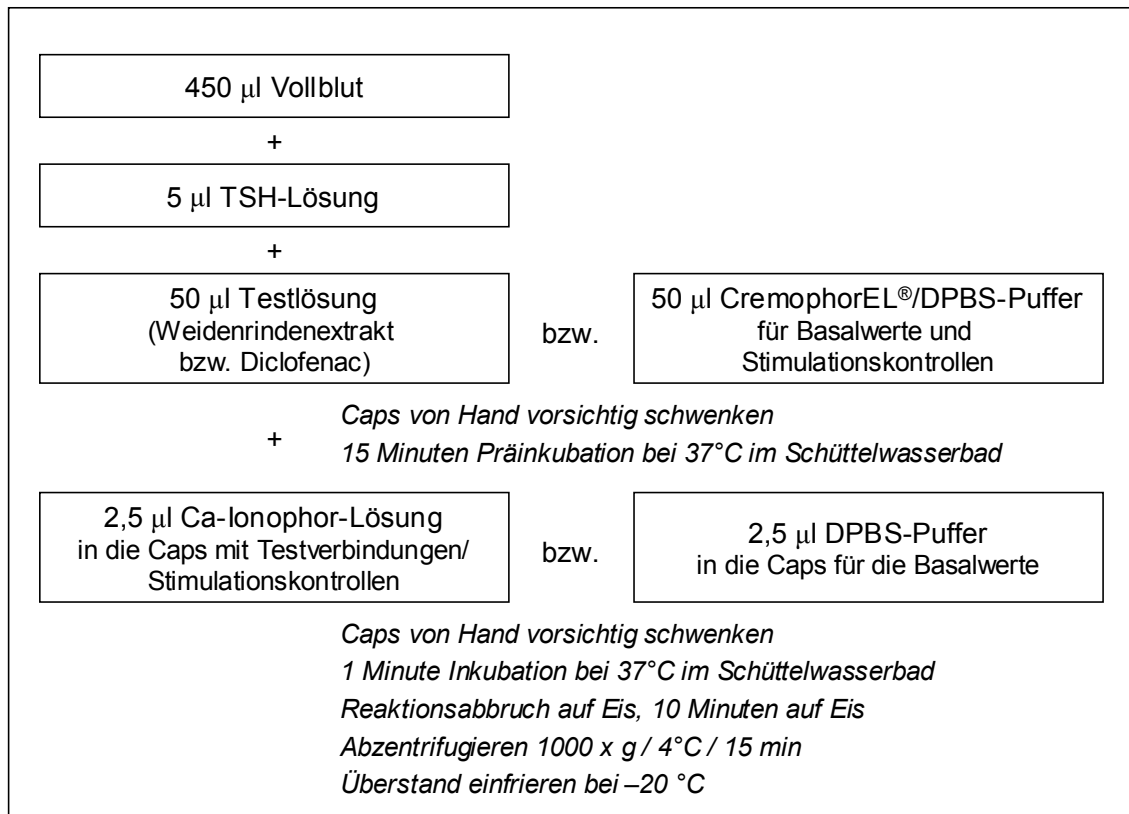


Abbildung 3: Methodik des COX-1-Vollblutassays

450 µl Heparin-Ammonium-Blut wurden in 2,0 ml Eppendorf Safe-Lock-Caps (Polypropylen) pipettiert. Um die Bildung von Thromboxanen zu unterdrücken, wurden 5 µl Thromboxan-Synthase-Hemmstoff-Lösung (TSH-Lösung) zugegeben. Nach Zugabe von 50 µl Testlösung (Weidenrindenextrakt oder Diclofenac in verschiedenen Konzentrationen) bzw. CremophorEL®/DPBS-Puffer wurden die Proben für 15 Minuten im Schüttelwasserbad bei 37°C präinkubiert. Anschließend wurde die PGE₂-Bildung durch Zugabe von 2,5 µl Calciumionophor A23187-Lösung stimuliert, und die Proben wurden für weitere 60 Sekunden im Schüttelwasserbad bei 37°C inkubiert. In die Caps zur Bestimmung der Basalwerte wurde DPBS-Puffer anstelle von Calciumionophor-Lösung zugegeben. Die PGE₂-Bildung wurde beendet, indem die Proben in ein Eis-Wasserbad gestellt wurden. Nach 10 Minuten im Eis-Wasserbad wurden die Proben zentrifugiert (1000 x g / 4°C / 15 min) und anschließend die Zellen verworfen und die Probenüberstände bei -20°C eingefroren. Die Quantifizierung des PGE₂ (Doppelbestimmungen) erfolgte mittels eines ELISA entsprechend der Herstellervorschrift (Prostaglandin E₂ Correlate-EIA Kit, Assay Designs, Ann Arbor, USA).

3.1.4.4 Methodik des Cox-2-Vollblutassays

Die von Laufer et al. [1999] beschriebene Methode zur Bestimmung der Hemmung der COX-2-Aktivität wurde zur Anwendung im Vollblut modifiziert. Abbildung 4 zeigt schematisch die Versuchsdurchführung.

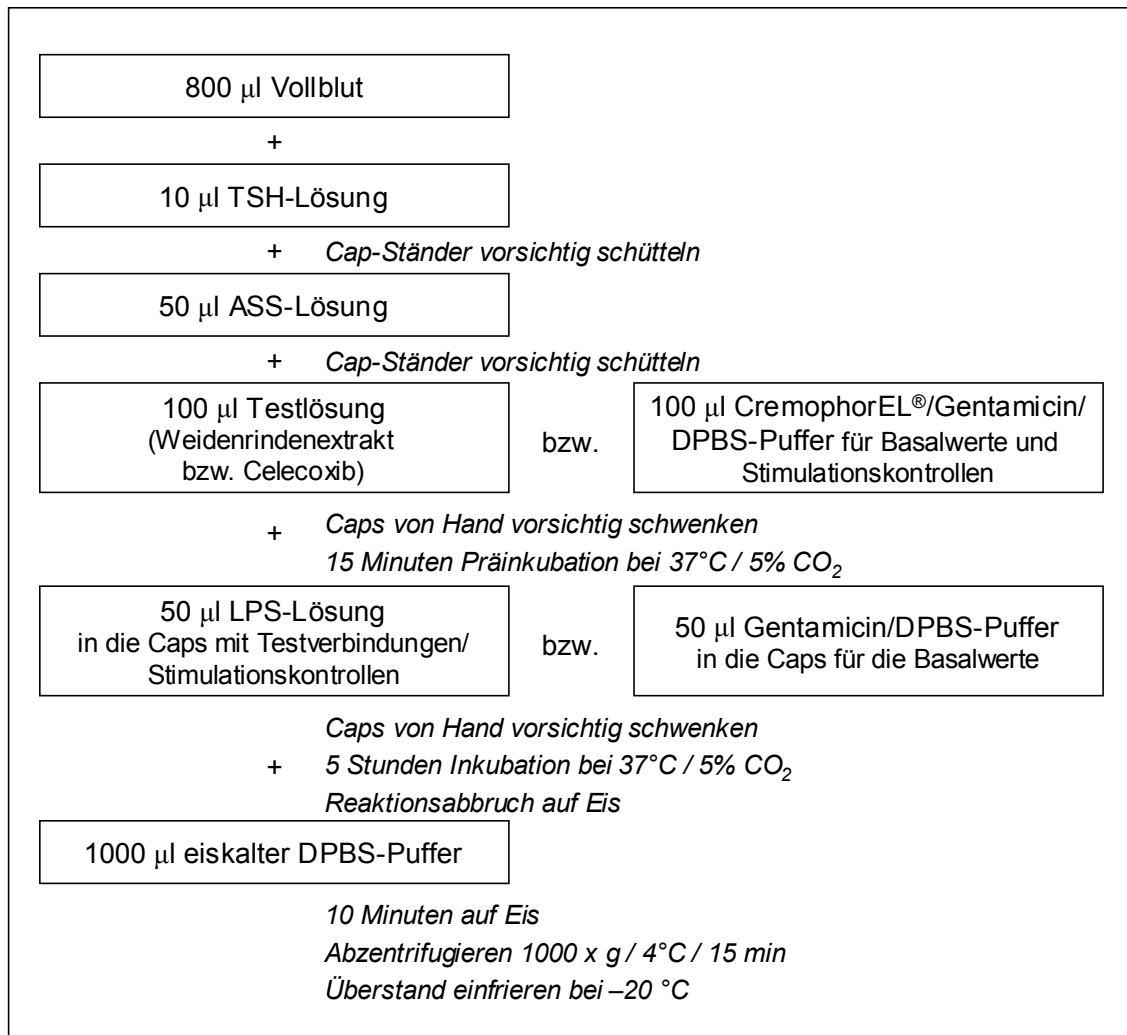


Abbildung 4: Methodik des COX-2-Vollblutassays

800 μl Heparin-Ammonium-Blut wurden in 2,0 ml Eppendorf Safe-Lock-Caps (Polypropylen) pipettiert. Um die Aktivität der Thromboxan-Synthase und der COX-1 zu hemmen, wurden 10 μl TSH-Lösung und 50 μl ASS-Lösung zugegeben. Nach Zugabe von 100 μl Testlösung (Weidenrindenextrakt oder Celecoxib in verschiedenen Konzentrationen) bzw. CremophorEL[®]/Gentamicin/DPBS-Puffer wurden die Proben für 15 Minuten bei 37°C / 5% CO₂ präinkubiert. Anschließend wurde die PGE₂-Bildung durch Zugabe von 50 μl LPS-Lösung stimuliert, und die Proben wurden für 5 Stunden bei 37°C / 5% CO₂ inkubiert. In die Caps zur Bestimmung der Basalwerte wurde Gentamicin/DPBS-Puffer anstelle von LPS-Lösung zugegeben. Die PGE₂-Bildung wurde durch Zugabe von 1000 μl eiskaltem DPBS-Puffer beendet, und die Proben wurden 10 Minuten in einem Eis-Wasserbad gelagert. Nach der Zentrifugation (1000 x g / 4°C / 15 min) wurden die Zellen verworfen und die Probenüberstände bei -20°C eingefroren. Die Quantifizierung des PGE₂ (Doppelbestimmungen) erfolgte mittels eines ELISA entsprechend der Herstellervorschrift (Prostaglandin E₂ Correlate-EIA Kit, Assay Designs, Ann Arbor, USA).

3.1.4.5 Methodik des Zytokin-Vollblutassays

Die Hemmung der Freisetzung von TNF α und IL-1 β wurde nach der von Laufer et al. [2002b] beschriebenen Methode bestimmt. Abbildung 5 zeigt schematisch die Versuchsdurchführung.

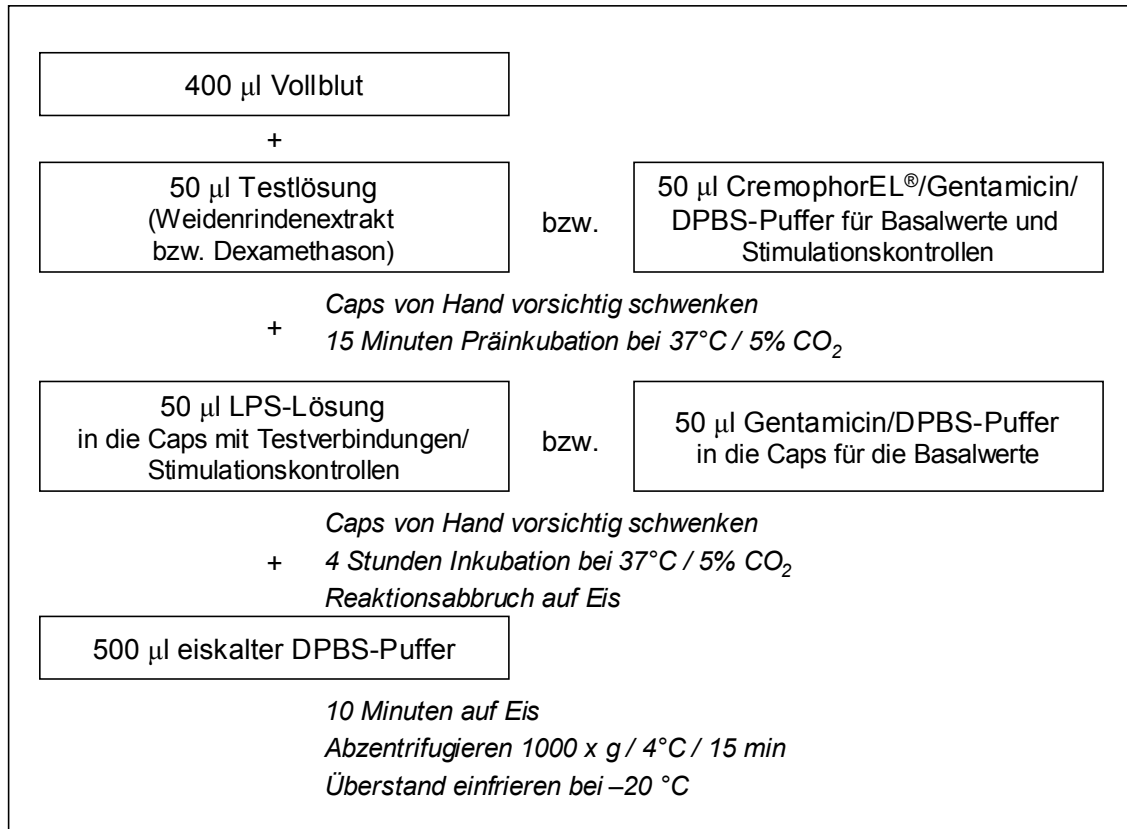


Abbildung 5: Methodik des Zytokin-Vollblutassays

400 µl Kalium-EDTA-Blut wurden in 2,0 ml Eppendorf Safe-Lock-Caps (Polypropylen) pipettiert. Nach Zugabe von 50 µl Testlösung (Weidenrindenextrakt oder Dexamethason in verschiedenen Konzentrationen) bzw. CremophorEL®/Gentamicin/DPBS-Puffer wurden die Proben für 15 Minuten bei 37°C / 5% CO₂ präinkubiert. Anschließend wurde die Zytokin-Freisetzung durch Zugabe von 50 µl LPS-Lösung stimuliert, und die Proben wurden für 4 Stunden bei 37°C / 5% CO₂ inkubiert. In die Caps zur Bestimmung der Basalwerte wurde Gentamicin/DPBS-Puffer anstelle von LPS-Lösung zugegeben. Die Zytokin-Freisetzung wurde durch Zugabe von 500 µl eiskaltem DPBS-Puffer beendet, und die Proben wurden 10 Minuten in einem Eis-Wasserbad gelagert. Nach der Zentrifugation (1000 x g / 4°C / 15 min) wurden die Zellen verworfen und die Probenüberstände bei -20°C eingefroren. Die Quantifizierung von TNF α und IL-1 β (Doppelbestimmungen) erfolgte mittels ELISAs entsprechend den Herstellervorschriften (TNF α Enzyme Immunoassay Kit und IL-1 β Enzyme Immunoassay Kit, Immunotech, Marseille, Frankreich).

3.1.4.6 Auswertung

Für jede Hemmstoffkonzentration wurde ein Versuchsansatz angelegt, zur Bestimmung der Basalwerte (Proben ohne Hemmstoff und ohne Stimulans) und Stimulationskontrollen (Proben ohne Hemmstoff, aber mit Stimulans) wurden mehrere Versuchsansätze angelegt. In den ELISA-Assays wurden die Konzentrationen an PGE_2 , $\text{TNF}\alpha$ und $\text{IL-1}\beta$ für jeden Ansatz doppelt bestimmt und auf die im Vollblutassay eingesetzten Volumina an Vollblut umgerechnet. Die gemittelten Basalwerte wurden von den jeweiligen stimulierten Werten abgezogen. Die Hemmwirkung der Testsubstanzen wird als prozentuale Hemmung der PGE_2 -Bildung (COX-1- und COX-2-Assays) bzw. der $\text{TNF}\alpha$ - und $\text{IL-1}\beta$ -Freisetzung (Zytokin-Assay) bezogen auf den Mittelwert der Stimulationskontrollen angegeben. IC_{50} -Werte wurden rechnerisch bestimmt und entsprechen in der graphischen Darstellung (prozentuale Hemmung im linearen Maßstab gegen Hemmstoffkonzentration im logarithmischen Maßstab) der Hemmstoffkonzentration bei 50% Hemmung. Alle Ergebnisse werden als Mittelwert \pm Standardabweichung angegeben.

3.1.5 Untersuchungen zur Zytotoxizität

3.1.5.1 MTT-Assay

Messprinzip

Der Assay basiert auf der Reduktion des gelben Tetrazoliumsalzes MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid] zu violetter, kristallinem Formazan durch metabolisch aktive, lebensfähige Zellen (Abbildung 6). Diese zelluläre Reaktion benötigt die Pyridin-Nukleotid-Kofaktoren NADH und NADPH . Die Formazan-Kristalle werden durch Zugabe eines Lösemediums solubilisiert, und die Farbintensität der Lösung wird in einem ELISA-Reader bei 560 nm vermessen. Die Absorptionswerte verhalten sich proportional zur mitochondrialen Aktivität der Zellen.

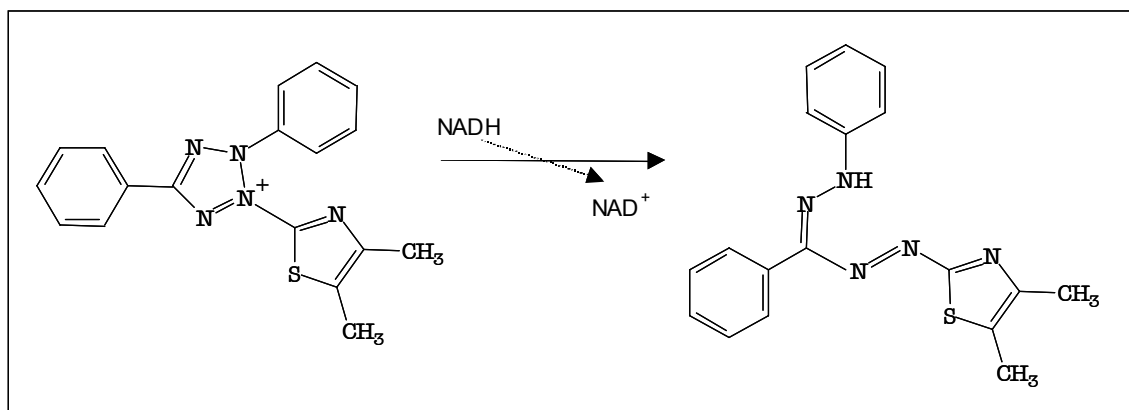


Abbildung 6: Reduktion des gelben Tetrazoliumsalzes MTT zu violetter Formazan

Blutproben

Je 20 ml Kalium-EDTA-Blut wurde von zwei Spendern aus der Blutspendezentrale des Universitätsklinikums Tübingen erhalten.

Testsubstanzen

Weidenrindenextrakt wurde in DMSO gelöst. Folgende Extraktkonzentrationen wurden im MTT-Assay untersucht: 1000, 300, 100, 30 und 10 µg/ml. Die DMSO-Konzentration im Testansatz betrug 1%.

Methodik

Mononukleäre Zellen wurden aus humanem Kalium-EDTA-Blut isoliert, wie bei Laufer et al. [2002a] beschrieben. Die Zellzahl wurde auf $2,5 \times 10^6$ Zellen pro ml eingestellt. 99 µl Zellsuspension wurden mit 1 µl Testsubstanzverdünnung bzw. DMSO (Maximal-Aktivitätsproben) versetzt (3 Ansätze pro Konzentration) und bei 37°C / 5% CO₂ für 15 min präinkubiert. Anschließend wurden 10 µl MTT-Lösung (Cell Proliferation Kit I, Roche Diagnostics, Mannheim) zugegeben und 4 Stunden bei 37°C / 5% CO₂ inkubiert. Nach Zugabe von 100 µl Lösemedium (Cell Proliferation Kit I, Roche Diagnostics, Mannheim) wurde für 18 Stunden bei 37°C / 5% CO₂ inkubiert. Die Probenabsorption wurde photometrisch im ELISA-Reader bei 560 nm bestimmt.

Auswertung

Aus den Absorptionswerten der Dreifachbestimmungen wurde der Mittelwert gebildet. Die Aktivität der Zellen nach Inkubation mit Weidenrindenextrakt wird als prozentuale Absorption der Testsubstanzproben bezogen auf den gemittelten Absorptionswert der Proben ohne Testsubstanz (maximale Aktivität) angegeben.

3.1.5.2 Trypanblau-Färbung**Messprinzip**

Bei der Trypanblau-Färbung wird die Lebensfähigkeit der Zellen über eine intakte Zellmembran definiert. Die Zellen werden mit Trypanblau angefärbt, wobei nur Zellen mit intakter Zellmembran den Farbstoff ausschließen.

Blutproben

Je 20 ml Kalium-EDTA-Blut wurde von zwei Spendern aus der Blutspendezentrale des Universitätsklinikums Tübingen erhalten.

Testsubstanzen

Weidenrindenextrakt wurde in DMSO gelöst. Folgende Extraktkonzentrationen wurden untersucht: 1000 µg/ml, 300 µg/ml und 100 µg/ml. Die DMSO-Konzentration im Testansatz betrug 1%.

Methodik

Mononukleäre Zellen wurden aus humanem Kalium-EDTA-Blut isoliert, wie bei Laufer et al. [2002a] beschrieben. Die Zellzahl wurde auf 1×10^6 Zellen pro ml eingestellt. 390 μ l Zellsuspension wurden mit 5 μ l Gentamicin-Lösung und 5 μ l Testsubstanzverdünnung bzw. DMSO versetzt (3 Ansätze pro Konzentration) und bei 37°C / 5% CO₂ für 15 min präinkubiert. Die Zellen wurden mit 100 μ l LPS-Lösung stimuliert und für 4 Stunden bei 37°C / 5% CO₂ inkubiert. Anschließend wurde zentrifugiert (400 x g / 20°C / 10 min), und 350 ml des Überstandes verworfen. 25 μ l der resuspendierten Zellsuspension wurden zu 225 μ l Trypanblaulösung 0,4% hinzugefügt. Nach 5 Minuten Inkubation bei Raumtemperatur wurden die Zellen mit Hilfe eines Hämocytometers (Abbildung 7) ausgezählt.

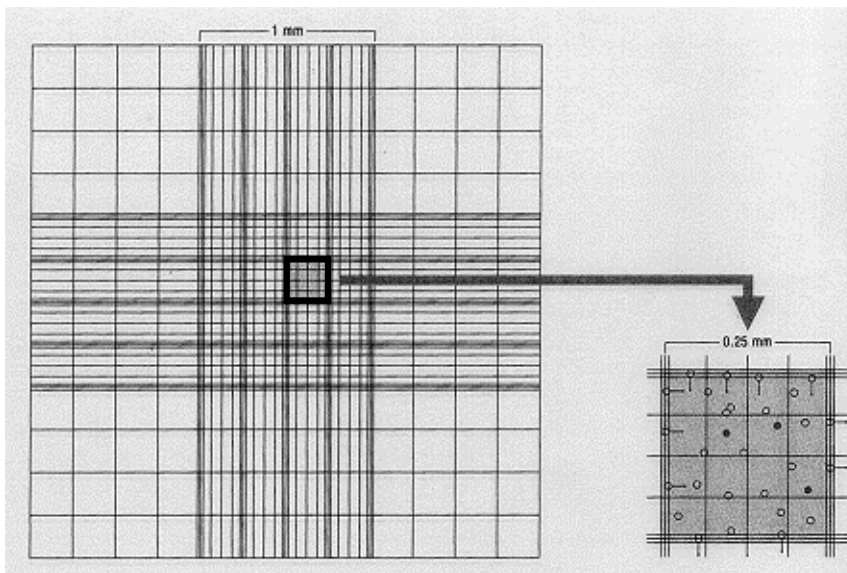


Abbildung 7: Bestimmung der Zelltoxizität durch Auszählen von Zellen mit einem Hämocytometer. Ein Quadrant ist hervorgehoben. [Roche Molecular Biochemicals, Apoptosis and Cell Proliferation, 2nd revised edition]

Auswertung

Im Sichtfeld des Hämocytometers wurden pro Probe die Zellen in zwei mal 16 Quadranten ausgezählt (Abbildung 7). Tote Zellen (Zellen mit defekter Zellmembran) sind blau angefärbt, lebensfähige Zellen (Zellen mit intakter Zellmembran) sind farblos. Der Prozentsatz der lebensfähigen Zellen wurde berechnet.

3.1.6 Ex vivo-Untersuchungen: Probandenstudie

3.1.6.1 Prüfpräparate

Weidenrindenextrakt

Ein Weidenrindendragee enthält 393,24 mg des selben Weidenrindenextraktes, der auch in den in vitro-Untersuchungen eingesetzt wurde (vgl. Abschnitt 3.1.1). Der Gesamtsalicingehalt pro Dragee beträgt 60 mg. Weitere Bestandteile sind Saccharose, Talkum, Calciumcarbonat (E 170), Maisstärke, mikrokristalline Cellulose, hochdisperses Siliciumdioxid, Gummi arabicum, Titandioxid (E 171), Lactose Monohydrat, weißer Ton, Magnesiumstearat, Farbstoff E 124, Schellack, Montanglycolwachs, Macrogol 6000, Glucosesirup und Glycerol. Die Weidenrindendragees wurden unter Verwendung des Extraktes der Firma Finzelberg (Andernach) von der Firma Robugen GmbH in Esslingen hergestellt.

Diclofenac

Als Diclofenac-Präparat wurde Voltaren[®] Resinat (Novartis Pharma, Nürnberg) eingesetzt. Eine Kapsel enthält 140 mg Diclofenac-Colestyramin (entsprechend 75 mg Diclofenac-Natrium).

3.1.6.2 Design und Ablauf der Probandenstudie

Abbildung 8 zeigt schematisch das Design der Studie „Untersuchungen zur Pharmakologie eines standardisierten Weidenrindenextraktes – offene, nicht-kontrollierte Probandenstudie“. Die Studie wurde von der Ethik-Kommission der Medizinischen Fakultät des Universitätsklinikums Tübingen genehmigt und dem Regierungspräsidium Tübingen und dem BfArM angezeigt (Vorlagenummer des BfArM: 4018906). Im Rahmen des Jahresvertrages der Universität Tübingen wurde für die Studienteilnehmer eine Versicherung bei der Inter Allgemeine Versicherungs AG, Köln, abgeschlossen.

Drei männliche Probanden im Alter von 26 bis 28 Jahren gaben ihr schriftliches Einverständnis und nahmen an der Studie teil. Bei der Eingangsuntersuchung am Tag -2 bzw. -1 wurden die Probanden von der Prüffärztin als gesund befunden (Routine-Laborwerte, Elektrokardiogramm und körperliche Untersuchung ohne Befund). Die Probanden hatten innerhalb von 7 Tagen vor Studienbeginn keine nicht-steroidalen Antirheumatika, Glukokortikoide oder synthetische oder pflanzliche Schmerzmittel eingenommen. Während der Studie wurden keine Begleitmedikamente eingenommen. An Tag 0 nahmen die Probanden nüchtern (nach nächtlichem Fasten) eine Einzeldosis Diclofenac (2 Kapseln Voltaren[®] Resinat entsprechend 150 mg Diclofenac-Natrium) oral ein. 2 Stunden später wurde ein standardisiertes Frühstück, 4 Stunden später ein standardisiertes Mittagessen eingenommen. Unmittelbar vor (t=0 h) sowie 1, 2, 4, 8 und 24 Stunden nach der Medikations-

einnahme wurde Blut venös entnommen (9 ml Heparin-Ammonium-Blut, 2,7 ml Kalium-EDTA-Blut pro Blutabnahme). Die ersten 3 ml jeder Blutabnahme wurden verworfen, um eine unspezifische Zellaktivierung durch Scherkräfte oder Gerinnungsprozesse zu verhindern. Die Blutabnahmen erfolgten in der Medizinischen Klinik des Universitätsklinikums Tübingen. Unmittelbar nach der Blutabnahme wurden die Monovetten (Sarstedt, Nümbrecht) ins Pharmazeutische Institut der Universität Tübingen gebracht und bis zur Verwendung im Assay bei 37°C / 350 rpm auf dem Schüttler gelagert. Nach einer 7-tägigen Auswaschphase nach der Einnahme von Diclofenac nahmen die Probanden an Tag 7 eine Einzeldosis Weidenrindenextrakt (4 Dragees entsprechend 240 mg Salicin) oral ein. Die Einnahme der Mahlzeiten sowie die Zeitpunkte der Blutentnahmen und die Handhabung der Blutproben erfolgten wie oben für Diclofenac beschrieben. An Tag 8 wurde zusätzlich zu der Blutentnahme für den 24-Stunden-Wert Blut für die abschließende Bestimmung von Laborsicherheitsparametern entnommen.

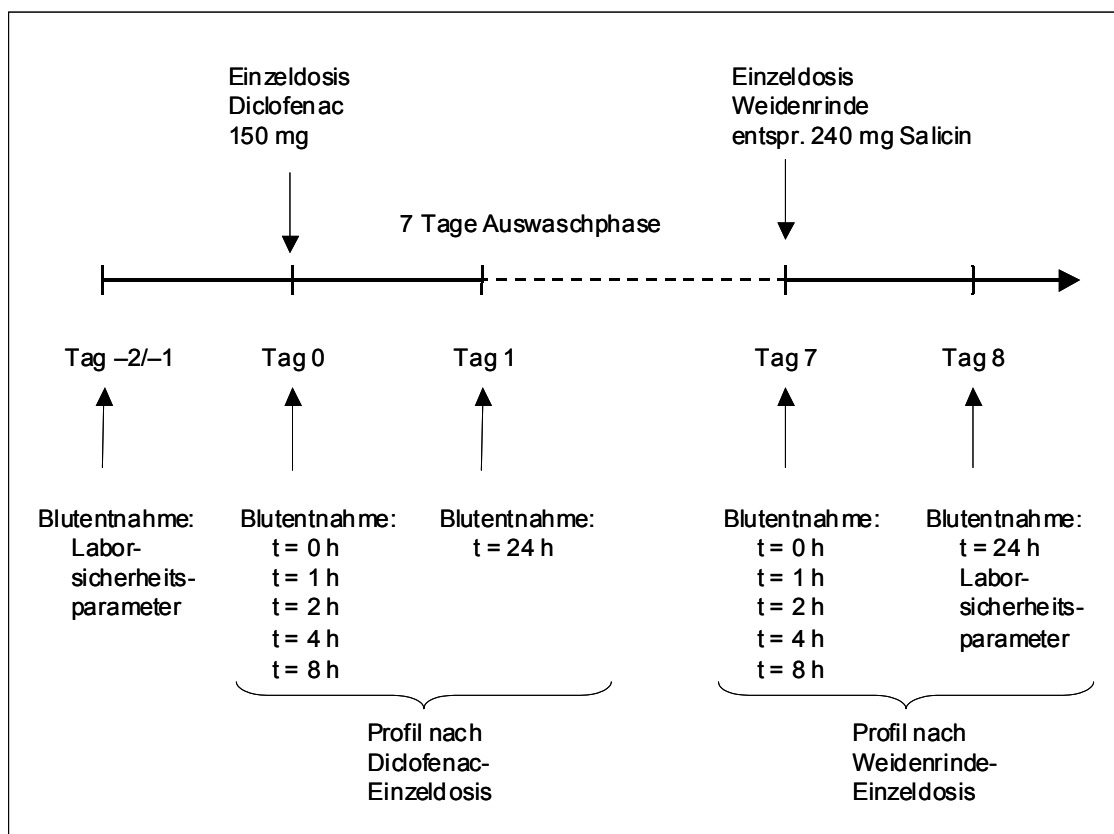


Abbildung 8: Design der pharmakologischen Probandenstudie

3.1.6.3 Methodik der ex vivo-Vollblutassays

Die Hemmung der COX-1 (Calciumionophor A23187-stimulierte PGE₂-Bildung), der COX-2 (LPS-stimulierte PGE₂-Bildung) und der Freisetzung von TNF α und IL-1 β (LPS-Stimulation) wurde mit den unter Abschnitt 3.1.4.3, 3.1.4.4 und 3.1.4.5 beschriebenen Methoden für die in vitro-Assays bestimmt. Anstelle der Testlösungen wurden reine Pufferlösungen zugefügt. Die Pufferlösungen (DPBS-Puffer im COX-1-Assay bzw. Gentamicin/DPBS-Puffer im COX-2- und im Zytokin-Assay) wurden ohne den Zusatz von CremophorEL[®] verwendet, da ohne den Zusatz von Testsubstanzen auf die lösungsvermittelnden Eigenschaften des CremophorEL[®] verzichtet werden konnte. Es wurden wiederum Proben mit und ohne Stimulans (Calciumionophor A23187 bzw. LPS) angesetzt.

3.1.6.4 Auswertung

Pro Proband, Messzeitpunkt und Assay wurden drei Versuchsansätze angelegt (2 stimulierte Ansätze, 1 nicht-stimulierter Ansatz). In den ELISA-Assays wurden die Konzentrationen an PGE₂, TNF α und IL-1 β für jeden Ansatz doppelt bestimmt und auf die im Vollblutassay eingesetzten Volumina an Vollblut umgerechnet. Die gemittelten Konzentrationen an PGE₂, TNF α und IL-1 β in nicht-stimulierten Proben wurden von den jeweiligen stimulierten Werten abgezogen. Somit resultierten pro Proband, Messzeitpunkt und Assay 4 Werte (stimulierte Werte abzüglich Mittelwert der unstimulierten Werte), die gemittelt wurden. Für jeden Probanden wurde für jeden Messzeitpunkt die prozentuale Konzentration an PGE₂, TNF α und IL-1 β bezogen auf die Konzentration zum Zeitpunkt t=0 h (vor der Medikationseinnahme) berechnet. Alle Daten werden als Mittelwert \pm Standardabweichung angegeben. Alle statistischen Wahrscheinlichkeiten basieren auf gepaarten t-Tests (n=3). Ein p-Wert unter 0,05 wird als statistisch signifikant betrachtet.

3.2 Klinische Studie

3.2.1 Studienprotokoll

3.2.1.1 Studienziel

Es soll durch eine randomisierte, placebo-kontrollierte, doppelblinde Pilotstudie bei ambulanten Patienten geprüft werden, ob es sich bei standardisiertem Weidenrindenextrakt um ein wirksames und verträgliches Medikament zur analgetischen und/oder antiinflammatorischen Behandlung der Rheumatoiden Arthritis handelt. Die Studie hat explorativen Charakter und soll eine Einschätzung ermöglichen, ob die Planung von Folgestudien in dieser Indikation gerechtfertigt ist.

3.2.1.2 Studiendesign

Es handelt sich um eine randomisierte, kontrollierte, multizentrische Doppelblindstudie bei Patienten mit Rheumatoider Arthritis, bei der ein Weidenrindenextrakt (entsprechend 240 mg Salicin pro Tag) nach einer Auswaschphase von 4 bis 10 Tagen über 6 Wochen im Parallelgruppenvergleich gegen Placebo geprüft wird.

Mit den „Core Sets“ des American College of Rheumatology (ACR) [Felson et al. 1993] und der Weltgesundheitsorganisation (WHO) / International League of Associations for Rheumatology (ILAR) [Boers et al. 1994] existieren internationale Empfehlungen zu Zielparametern für klinische Studien bei Rheumatoider Arthritis, die in dieser Studie zur Anwendung kommen.

90 Patienten sollen randomisiert werden und auf Basis der Intention-to-treat-Population ausgewertet werden. Eine zusätzliche Auswertung erfolgt auf Basis der Per-protocol-Population.

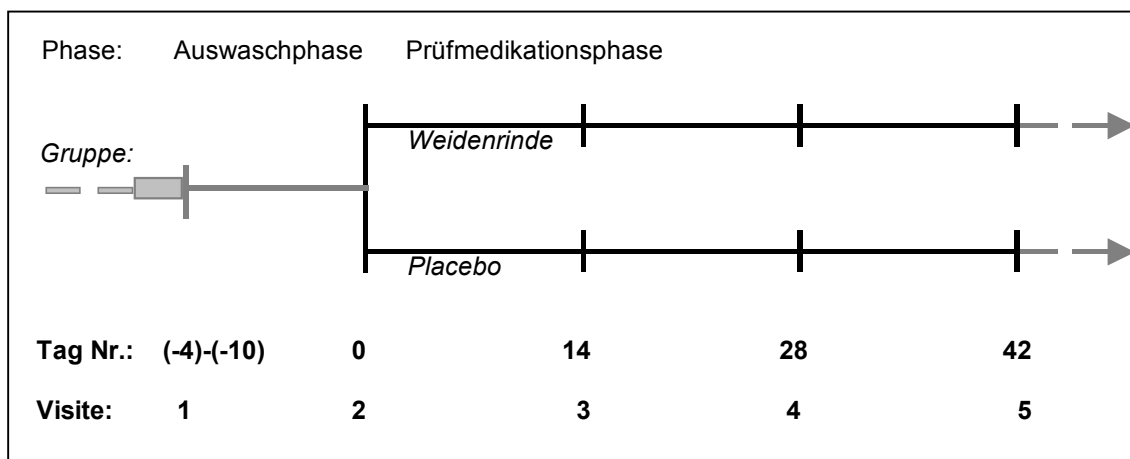


Abbildung 9: Schematischer Studienablauf

Begründung des Studiendesigns

In dieser Pilotstudie wird erstmalig die Wirksamkeit eines standardisierten Weidenrindenextraktes bei Patienten mit Rheumatoider Arthritis untersucht. Um eine Aussage über die Wirksamkeit treffen zu können, wurde eine Placebogruppe als Kontrollgruppe ausgewählt. Die Einnahme von NSAR oder Analgetika ist während der Studie ausgeschlossen. Auf eine Rescue-Medikation (ein vorgegebenes Schmerzmittel, das bei ungenügender Schmerzlinderung zusätzlich eingenommen werden darf) wurde verzichtet, um Unterschiede zwischen wirksamer und unwirksamer Therapie deutlicher erkennen zu können. Die Patienten werden ausdrücklich darauf hingewiesen, dass sie im Falle einer unzureichenden Schmerzlinderung die Studie abbrechen können.

Die Dosierung des Prüfmedikamentes (zweimal täglich 2 Dragees, entsprechend 240 mg Salicin pro Tag) entspricht den Empfehlungen des Herstellers und den Empfehlungen der European Scientific Cooperative on Phytotherapy [1997].

Die Dauer der Prüfphase von 6 Wochen entspricht den Empfehlungen der WHO/ILAR [Brooks 1994] und den „Guidelines for the clinical evaluation of anti-inflammatory and antirheumatic drugs“ der amerikanischen Gesundheitsbehörde FDA [1977, revised 1988] für klinische Pilotstudien mit nicht-steroidalen Antirheumatika. In einer neueren Guideline empfiehlt die FDA [1999] zum Nachweis einer Symptomlinderung bei Rheumatoider Arthritis eine Studiendauer von mindestens 3 Monaten. In Anbetracht des explorativen Studiendesigns wurde für diese Pilotstudie eine Studiendauer von 6 Wochen zum prinzipiellen Nachweis einer Wirksamkeit für ausreichend erachtet.

3.2.1.3 Patientenkollektiv

Folgende Ein- und Ausschlusskriterien werden definiert:

Einschlusskriterien

- Männliche und weibliche Patienten über 18 Jahre
- Nach den ACR-Kriterien verifizierte Rheumatoide Arthritis [Arnett et al. 1988] (vgl. Abschnitt 2.3.1)
- Alter bei Krankheitsbeginn: mindestens 16 Jahre
- Funktionsstadium I, II oder III der ACR-Klassifikation [Hochberg et al. 1992]
- Unterschriebene Einverständniserklärung des Patienten
- Patienten, die 7 Tage vor Studienbeginn keine NSAR oder Analgetika eingenommen haben, müssen bereits bei der Screening-Visite (Visite 1) eine gewisse Krankheitsaktivität aufweisen; hierzu muss mindestens 1 der folgenden 3 Kriterien erfüllt sein:
 - mindestens 4 druckschmerzhaft Gelenke
 - mindestens 2 geschwollene Gelenke
 - Morgensteifigkeit von mindestens 45 Minuten Dauer bis zur maximalen Besserung

Für Patienten, die in dem Zeitraum 7 Tage vor Studienbeginn NSAR oder Analgetika eingenommen haben, entfällt dieses Kriterium.

- Aktives Krankheitsbild nach der Auswaschphase; hierzu müssen bei der Visite 2 (Randomisierung) mindestens 2 der folgenden 4 Kriterien erfüllt sein:
 - mindestens 6 druckschmerzhafte Gelenke
 - mindestens 3 geschwollene Gelenke
 - Morgensteifigkeit von mindestens 45 Minuten Dauer bis zur maximalen Besserung
 - BSG mindestens 28 mm (Laborwert der Visite 1)

Ausschlusskriterien

Allgemeine Ausschlusskriterien

- Teilnahme an einer klinischen Prüfung in den letzten 30 Tagen
- Unzureichende Kenntnis der deutschen Sprache, um die Patientenfragebögen zur körperlichen Funktionsfähigkeit (HAQ) und zur Lebensqualität (SF-36) ausfüllen zu können
- Schwangerschaft oder Stillzeit (Befragung durch den Arzt und Schwangerschaftstest bei der Visite 1)

Anamnestische Ausschlusskriterien

Die folgenden Ausschlusskriterien werden durch die Befragung des Patienten durch den Prüfarzt überprüft:

- Bekannte Allergie gegen Salicylate oder Weidenrindenpräparate
- Asthma bronchiale und spastische Bronchitiden (entweder Anfall in den letzten 5 Jahren oder medikamentöse Dauertherapie)
- Aktuelle gastrointestinale Ulcera
- Aktuelle onkologische Erkrankungen
- Herzinsuffizienz NYHA-Stadium IV
- Herzinsuffizienz NYHA-Stadium III, die noch nicht seit mindestens 3 Monaten konstant therapiert ist
- Ungeklärte Blutbildungsstörungen
- Alkoholabusus

Laborwerte

Maßgeblich sind die bei der Visite 1 ermittelten Laborwerte:

- Kreatinin-Clearance unter 30 ml/min, berechnet nach der Cockcroft-Formel [Cockcroft et al. 1976]
- Folgende Enzymkonzentrationen:
Serum-GOT über 35 U/l; Serum-GPT über 35 U/l; Serum-Gamma-GT über 50 U/l

Nicht zulässige Begleittherapien

Ermittlung durch Befragung durch den Prüfarzt:

- Behandlung mit Antikoagulantien wie Phenprocoumon (Marcumar®)
- Behandlung mit Acetylsalicylsäure zur Thrombozytenaggregationshemmung in Dosierungen über 100 mg / Tag
- Behandlung mit oralen Glukokortikoiden in einer Dosis über 7,5 mg Prednisolon-äquivalent pro Tag oder Dosisänderung innerhalb eines Monats vor Studienbeginn
- Intraartikuläre, intramuskuläre oder intravenöse Glukokortikoidinjektionen innerhalb eines Monats vor Studienbeginn
- Behandlung mit Azathioprin, Chloroquin, Hydroxychloroquin, Ciclosporin, Gold, Leflunomid, Methotrexat, Penicillamin und Sulfasalazin über weniger als 6 Monate vor Studienbeginn oder Dosisänderung in den letzten 3 Monaten vor Studienbeginn
- Behandlung mit Etanercept, Infliximab oder Cyclophosphamid
- Chirurgische Synovektomie, chemische oder radiologische Synoviorthese in einem großen Gelenk in den letzten 3 Monaten
- Analgetika / NSAR sind während der Studie nicht erlaubt und müssen vor Beginn der Auswaschphase abgesetzt werden.

Protokollverletzung während der Auswaschphase

Patienten, die während der Auswaschphase bezüglich ihrer Begleittherapie gegen das Studienprotokoll verstoßen, werden von der endgültigen Aufnahme in die Studie ausgeschlossen.

Nach Überprüfung der sofort erfassbaren Ein- und Ausschlusskriterien erfolgt bei der Screening-Visite (Visite 1) die vorläufige Aufnahme in die Studie und der Beginn der Auswaschphase. Die endgültige Aufnahme in die Studie und die Randomisierung erfolgen bei der Visite 2 (Tag 0), sofern die Laborwerte und die Aktivität des Krankheitsbildes den Ein- und Ausschlusskriterien genügen und sofern während der Auswaschphase nicht gegen Protokollbestimmungen bezüglich der Begleittherapie verstoßen wurde.

3.2.1.4 Prüfzentren

Prüfzentren sind die Medizinische Universitätsklinik in Tübingen, die Filderklinik in Filderstadt, eine niedergelassene rheumatologische Praxis in Stuttgart und eine niedergelassene rheumatologische Praxis in Heidelberg. Patienten, die sich für eine Studienteilnahme interessieren, können nach telefonischer Anmeldung direkt in eines der vier Prüfzentren kommen und ihre Eignung für eine Studienteilnahme überprüfen lassen. Zusätzlich sind niedergelassene Ärzte an der Patientenrekrutierung beteiligt, indem sie nach Überprüfung der wesentlichen Ein- und Ausschlusskriterien („Vorscreening“) Patienten für eine Studienteilnahme an die Prüfzentren weiterleiten.

3.2.1.5 Behandlungen

Mit Beginn der vorläufigen Aufnahme in die Studie setzt der Patient alle zuvor eingenommenen Analgetika und NSAR ab.

Während der **Auswaschphase** nimmt der Patient morgens und abends je zwei Placebodragees eine halbe Stunde vor dem Essen unzerkaut mit Flüssigkeit ein.

Die Dauer der Auswaschphase wird in Abhängigkeit von der NSAR-Vormedikation festgelegt. Sie beträgt für Patienten, die mit langwirksamen NSAR (Eliminationshalbwertszeit > 20 Stunden, z.B. Piroxicam, Tenoxicam) vorbehandelt wurden, mindestens 7 Tage, für alle anderen Patienten mindestens 4 Tage. Bei allen Patienten kann die Auswaschphase bei Terminschwierigkeiten bis auf maximal 10 Tage ausgedehnt werden.

Während der **Prüfphase** nimmt der Patient morgens und abends je zwei Dragees Weidenrindenextrakt (entsprechend 240 mg Gesamtsalicyl pro Tag) oder Placebo eine halbe Stunde vor dem Essen unzerkaut mit Flüssigkeit ein.

Die **Visiten 2, 3, 4 und 5** finden an den Tagen 0, 14 ± 3 , 28 ± 3 und 42 ± 3 statt, wobei der nachfolgende Termin höchstens 18 Tage nach dem vorhergehenden Termin stattfinden darf. Falls möglich, sollten die Termine exakt an den Tagen 14, 28 und 42 stattfinden.

Die **Studienmedikation** wurde unter Verantwortung der Firma Robugen GmbH, Esslingen, für diese Studie hergestellt und nach vollständiger analytischer und mikrobiologischer Untersuchung im Oktober 2000 freigegeben. Sie besteht aus:

- Placebo für die Auswaschphase, grüne Dragees; Ch.B.: 070181
- Placebo für die Prüfphase, rote Dragees; Ch.B.:07019
- Weidenrindenextrakt für die Prüfphase, rote Dragees; Ch.B.: 08023

Die Weidenrindendragees enthalten neben Hilfsstoffen 393,24 mg Weidenrindentrockenextrakt, entsprechend 60 mg Gesamtsalicyl, pro Dragee. Bei dem Weidenrindenextrakt handelt es sich um die selbe Charge, die auch bei den pharmakologischen Untersuchungen eingesetzt wurde (Für eine Beschreibung des Extraktes vgl. Abschnitt 3.1.1). Die Placebodragees enthalten anstelle des Weidenrindenextraktes mehr Saccharose, Maisstärke und mikrokristalline Cellulose. Zusätzlich wurden den Drageekernen der Placebodragees Farbstoffe zugesetzt, um sie farblich den Drageekernen der Weidenrindendragees anzupassen. Die Dragees der Prüfphase (Weidenrindenextrakt und Placebo) sind hinsichtlich Aussehen, Geruch und Geschmack identisch.

Für jede Randomnummer wurden 3 Polyethylenkruken mit je 72 Dragees in einer Faltschachtel verpackt. Die Verpackung und Etikettierung der Studienmedikation wurde vom Hersteller anhand der Randomisierungsliste vorgenommen. Die Faltschachteln und Kruken sind gemäß den Vorschriften des Arzneimittelgesetzes (§10, Absatz 10) beschriftet und mit der jeweiligen Randomnummer versehen.

Während der Studiendurchführung wird die Stabilität der Studienmedikation mehrfach durch den Hersteller überprüft.

3.2.1.6 Randomisierung

Die Randomisierungsliste wurde vom Hersteller der Studienmedikation unter Verwendung des Computerprogramms Rancode[®] der Firma IDV, München, generiert. Dabei wurde die Prüfmedikation (Weidenrindenextrakt oder Placebo) zufällig den Randomnummern zugeordnet. Es wurde in 4er-Blöcken randomisiert. Die Prüfzentren werden stets blockweise mit Studienmedikation versorgt. Folgende Randomnummern werden für das jeweilige Prüfzentrum reserviert: 400-447, Tübingen; 448-499, Stuttgart; 500-547, Filderstadt, 548-599, Heidelberg. Die Randomisierung der Patienten erfolgt durch den Prüfarzt bei der Visite 2 am Tag 0. Den Patienten wird stets die nächstniedrige Randomnummer zugeteilt.

3.2.1.7 Verblindung

Alle an der Studiendurchführung beteiligten Ärzte, Patienten und weitere Personen sind hinsichtlich der Zuteilung der Patienten zu den Behandlungsgruppen verblindet. Der Prüfarzt erhält zusammen mit der Studienmedikation für jede Randomnummer ein versiegeltes Notfallkuvert, das die Therapiezugehörigkeit der entsprechenden Randomnummer beinhaltet. Sollte er es in einer Notfallsituation für notwendig erachten, die Gruppenzugehörigkeit eines bestimmten Patienten zu erfahren, hat er die Möglichkeit, das jeweilige Notfallkuvert zu öffnen. Zeitpunkt und Gründe des Entblindens müssen im Patientenordner festgehalten und der Leiterin der klinischen Prüfung und dem wissenschaftlichen Leiter innerhalb von 48 Stunden mitgeteilt werden. Ein zweiter Satz Notfallkuverts wird beim wissenschaftlichen Leiter verwahrt. Alle Notfallkuverts werden regelmäßig bei den Monitorbesuchen auf ihre Unversehrtheit überprüft. Die Randomisierungsliste wird unter Verschluss beim Hersteller sowie durch einen unabhängigen Dritten am Institut für Medizinische Informationsverarbeitung des Universitätsklinikums Tübingen aufbewahrt.

Die Gewährleistung der Verblindung wird für jeden Patienten überprüft. Bei der Abschlussvisite werden Arzt und Patient befragt, ob sie zu wissen glauben, mit welchem Prüfpräparat (Weidenrindenextrakt oder Placebo) der Patient behandelt wurde.

3.2.1.8 Begleittherapien

Analgetika oder NSAR sind als Begleitmedikation ausgeschlossen (während der Auswaschphase und während der Prüfphase). Die Einnahme von Acetylsalicylsäure zur Thrombozytenaggregationshemmung in Dosierungen über 100 mg pro Tag ist ein Ausschlusskriterium.

Die Einnahme der **Basistherapeutika** Azathioprin, Chloroquin, Hydroxychloroquin, Ciclosporin, Gold, Leflunomid, Methotrexat, Penicillamin und Sulfasalazin während der Studie ist erlaubt, sofern

- sie über mindestens 6 Monate eingenommen wurden
- UND die Dosis während drei Monaten vor Studienbeginn nicht verändert wurde
- UND die Dosis während der Studie konstant bleibt

Patienten, die mit Etanercept, Infliximab oder Cyclophosphamid behandelt werden, werden von der Teilnahme ausgeschlossen (vgl. Abschnitt 3.2.1.3).

Die Einnahme **oraler Glukokortikoide** während der Studie ist erlaubt, sofern

- die Dosis 7,5 mg Prednisolonäquivalent pro Tag nicht übersteigt
- UND die Dosis innerhalb eines Monats vor Studienbeginn nicht verändert wurde
- UND die Dosis während der Studie konstant bleibt

Parenterale Glukokortikoide (intraartikulär, intramuskulär oder intravenös) sind innerhalb eines Monats vor Studienbeginn und während der Studie nicht erlaubt.

In den drei Monaten vor Studienbeginn und während der Studie dürfen in keinem Gelenk eine chirurgische **Synovektomie** oder eine chemische oder radiologische **Synoviorthese** vorgenommen werden.

Die Weiterführung **physikalischer Therapien** ist erlaubt, sofern Art und Häufigkeit der Behandlungen während der Studie annähernd konstant bleiben.

Es wird zu Beginn der Studie dokumentiert, ob der Patient regelmäßig oder gelegentlich **Rheumasalben** anwendet. Er wird aufgefordert, die Anwendungen in Art und Häufigkeit konstant zu halten.

Die Einnahme von **naturheilkundlichen oder homöopathischen Arzneimitteln** ist erlaubt, sofern die Anwendung während der Studie annähernd konstant bleibt.

3.2.1.9 Compliance

Die Einnahme der Studienmedikation wird durch Dokumentation im Patiententagebuch sowie durch Zählung der vom Patienten zurückgebrachten Dragees durch den Prüfarzt und den Monitor überprüft.

3.2.1.10 Zielparameter

Hauptzielparameter

- Absolute Veränderung der Selbsteinschätzung der Schmerzintensität durch den Patienten auf einer 10 cm-VAS von Visite 2 (Tag 0) zu Visite 5 (Tag 42)

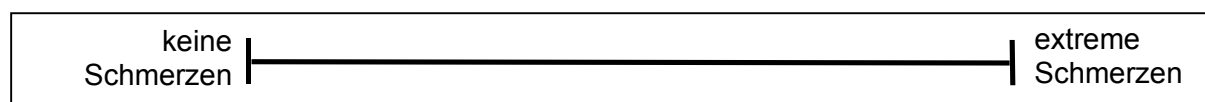
Nebenzielparameter

- Veränderung der Anzahl druckschmerzhafter Gelenke (28-Joint-Count)
- Veränderung der Anzahl geschwollener Gelenke (28-Joint-Count)
- Veränderung der körperlichen Funktionsfähigkeit, bestimmt durch den Health Assessment Questionnaire (HAQ) Disability Index
- Veränderung der Intensität der Morgensteifigkeit (10 cm-VAS)
- Gesamtbeurteilung des Therapieerfolges durch den Patienten (10 cm-VAS)
- Gesamtbeurteilung des Therapieerfolges durch den Arzt (10 cm-VAS)
- Veränderung der Lebensqualität, bestimmt durch den SF-36-Index
- Veränderung der Akutphasereaktanten BSG und CRP
- Anzahl der ACR-20-Responder
- Daten zu Sicherheit und Verträglichkeit

Messverfahren

Schmerz-VAS

Der Patient bewertet die Intensität seiner Gelenkschmerzen mit Hilfe einer 10 cm langen visuellen Analogskala (VAS) mit den Extremwerten 0 cm: „keine Schmerzen“ und 10 cm: „extreme Schmerzen“.



28-Joint-Count

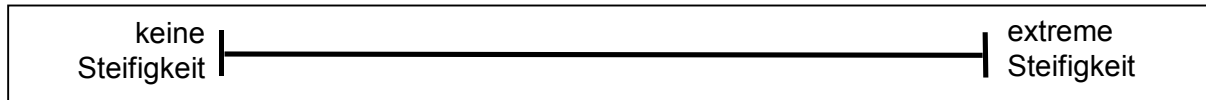
Bei dem 28-Joint-Count [Fuchs et al. 1989] werden folgende Gelenke vom Prüfarzt auf Druckschmerzhaftigkeit und Schwellung untersucht: Schultern, Ellenbogen, Handgelenke, Metacarpophalangeal (MCP)-Gelenke, Proximale Interphalangeal (PIP)-Gelenke, Knie. Das Ergebnis ist für jedes Gelenk dichotom, das heißt, entweder druckschmerzhaft oder nicht druckschmerzhaft bzw. geschwollen oder nicht geschwollen. Es wird die Anzahl der druckschmerzhaften bzw. geschwollenen Gelenke ermittelt.

Health Assessment Questionnaire (HAQ)

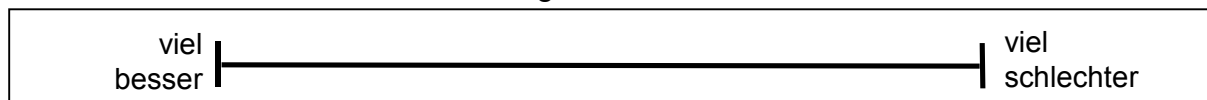
Der „Disability Index“ des HAQ ist ein Fragebogen, der vom Patienten ausgefüllt wird und seine Fähigkeiten untersucht, alltägliche Tätigkeiten auszuüben. Im folgenden wird die Bezeichnung HAQ synonym mit dem „HAQ Disability Index“ verwendet. Der Fragebogen wird in der validierten deutschen Übersetzung von Lautenschläger et al. [1997] verwendet.

Morgensteifigkeit

Der Patient bewertet die Intensität seiner morgendlichen Gelenksteifigkeit mit Hilfe einer 10 cm langen visuellen Analogskala (VAS) mit den Extremwerten 0 cm: „keine Steifigkeit“ und 10 cm: „extreme Steifigkeit“.

Gesamturteil Patient bzw. Arzt

Die Gesamtbeurteilung des Therapieerfolges wird von Patient und Arzt unabhängig auf einer 10 cm langen VAS vorgenommen. Die maximale Verbesserung beträgt +5 cm, die maximale Verschlechterung –5 cm.

SF-36

Der Patient bewertet seine Lebensqualität mit Hilfe des SF-36-Fragebogens (Zeitfenster 1 Woche), von dem eine deutsche Übersetzung in validierter Form vorliegt [Bullinger 1995].

BSG und CRP

Die Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit der ersten Stunde wird nach Westergren durch den Prüfarzt bzw. durch Klinikpersonal bestimmt. Die Bestimmung des C-reaktiven Proteins erfolgt durch die Laboratorien der Prüfzentren.

Anzahl der ACR-20-Responder

Es wird die Anzahl der Patienten bestimmt, die die Kriterien für eine ACR-20-Response (Visite 2 – Visite 5) erfüllen [Felson et al. 1995]:

- mindestens 20% Verbesserung in der Anzahl druckschmerzhafter Gelenke
- UND mindestens 20% Verbesserung in der Anzahl geschwollener Gelenke
- UND mindestens 20% Verbesserung in mindestens 3 der folgenden 5 Kriterien:
 - Schmerzbeurteilung durch den Patienten (VAS)
 - HAQ
 - Gesamtbeurteilung des Therapieerfolges durch den Patienten
 - Gesamtbeurteilung des Therapieerfolges durch den Arzt
 - BSG

Daten zur Sicherheit und Verträglichkeit

Eine Beurteilung der Sicherheit und Verträglichkeit der Therapie erfolgt auf Basis von Labordaten und aufgetretenen Unerwünschten Ereignissen. Sicherheitslaborparameter werden bei den Visiten 1 und 5 durch die hausinternen bzw. kooperierenden Laboratorien der beteiligten Prüfzentren ermittelt. Die erhobenen Laborwerte entsprechen den Empfehlungen der Deutschen Pharmakologischen Gesellschaft

[1979] zur Durchführung klinisch-chemischer Untersuchungen bei der Prüfung von Arzneimitteln. Unerwünschte Ereignisse werden im Patiententagebuch festgehalten und zusätzlich bei jedem Besuch im Prüfzentrum erfragt.

Weiterhin wird der Patient bei der Abschlussvisite um eine Beurteilung der Verträglichkeit des Prüfmedikaments anhand einer 10 cm-VAS mit den Extremwerten 0 cm: „sehr gut“ und 10 cm: „sehr schlecht“ gebeten.

3.2.1.11 Studienablauf

Tabelle 9 fasst den Ablauf der Studie zusammen und listet für jede Visite auf, welche Punkte vorgenommen bzw. welche Parameter erfasst werden sollen.

Tabelle 9: Ablaufdiagramm

	Visite 1 Tag (-X) X = 4-10	Visite 2 Tag 0	Visite 3 Tag 14	Visite 4 Tag 28	Visite 5 Tag 42/ Abbruch*
Diagnose nach ACR	X				
Einverständniserklärung	X				
Ein- und Ausschlusskriterien	X	X			
Demographie und Anamnese	X				
Tagebuch-Ausgabe	X				
Placebo-Ausgabe	X				
Randomisierung		X			
Ausgabe der Prüfmedikation		X	X	X	
Tagebuch-Kontrolle		X	X	X	X
Compliance		X	X	X	X
Ermittlung der Begleitmedikation	X	X	X	X	X
Unerwünschte Ereignisse		X	X	X	X
Laboruntersuchungen	X				X
Schmerz-VAS	X	X	X	X	X
28-Joint-Count	X	X	X	X	X
HAQ		X	X	X	X
Morgensteifigkeit	X	X	X	X	X
Gesamturteil Patient			X	X	X
Gesamturteil Arzt					X
SF-36		X			X
BSG, CRP	X	X			X

*Abbruchvisite: Visite 5 sollte auch dann durchgeführt werden, wenn der Patient vorzeitig die Studie beendet.

3.2.1.12 Fallzahlabeschätzung

Die benötigte Patientenzahl wird auf der Grundlage des Hauptzielkriteriums (Veränderung der Schmerzselbsteinschätzung auf einer 10 cm langen VAS) berechnet und bezieht sich auf die Intention-to-treat-Population.

Dabei gehen folgende Variablen in die Berechnung ein:

- Das Signifikanzniveau α wird auf 5% festgesetzt (zweiseitig).
- Der β -Fehler wird auf 20% festgesetzt, woraus sich eine Power von 80% ergibt.
- Die minimale klinisch relevante Differenz δ (Angabe in cm auf der VAS) zwischen Verum- und Placebogruppe wird mit 1,5 cm angenommen [Bellamy 1993].
- Die Standardabweichung (SD) der Schmerz-VAS-Werte wird mit 2,54 cm angenommen, entsprechend der durchschnittlichen Standardabweichung in ausgewählten Studien mit NSAR bei Rheumatoider Arthritis.

Die benötigte Fallzahl pro Behandlungsgruppe n berechnet sich nach folgender Formel:

$$n = M / DS^2$$

mit M ($\alpha = 0,05$ und $\beta = 0,2$, zweiseitig) = 15,7 und $DS = \delta / SD$

Somit ergibt sich eine minimale Fallzahl von 45 Patienten pro Gruppe.

3.2.1.13 Statistische Verfahren

Studienhypothesen

Nullhypothese

Bei der Behandlung von Patienten mit Rheumatoider Arthritis besteht hinsichtlich der Wirksamkeit, gemessen mit einer Schmerz-VAS, kein Unterschied zwischen Weidenrindenextrakt und Placebo.

Alternativhypothese

Die Wirksamkeit des Weidenrindenextraktes unterscheidet sich von der Wirksamkeit von Placebo bei der Behandlung von Patienten mit Rheumatoider Arthritis.

Definition der Patientenpopulationen

Gescreente Patienten

Als gescreent gelten alle Patienten, die in die Patientenliste des Prüfarztordners aufgenommen wurden.

Intention-to-treat-Population (behandelte Patienten)

Die Intention-to-treat-Population orientiert sich so eng wie möglich am Intention-to-treat-Prinzip. Sie besteht aus allen randomisierten Patienten, die mindestens eine Dosis Prüfmedikament eingenommen haben. (Die Placebomedikation der Auswaschphase ist kein Prüfmedikament.)

Per-protocol-Population (voll auswertbare Patienten)

Ein Patient wird der Per-protocol-Population zugeteilt, wenn

- er die Studie ohne Protokollverstöße ganz abgeschlossen hat
- ODER er die Studie aufgrund mangelnder Wirksamkeit des Prüfpräparates abgebrochen hat (Therapieversager)
- ODER er die Studie frühestens nach der Visite 3 abgebrochen hat
- UND seine Visiten im vorgesehenen Zeitfenster stattgefunden haben
- UND er bezogen auf den Zeitraum seiner Teilnahme an der Studie mindestens 80% der Prüfmedikation eingenommen hat.

In unklaren Fällen wird in einer Abschlusssitzung vor der Entblindung („blind review meeting“) über die Zuteilung des Patienten zur Per-protocol-Population entschieden.

Therapieversager

Therapieversager sind Patienten, die die Prüfung aufgrund mangelnder Wirksamkeit des Prüfpräparates abgebrochen haben. Wenn diese den sonstigen Kriterien der Per-protocol-Population entsprechen, werden sie in die Per-protocol-Auswertung einbezogen.

Protokollverstöße

Begleitmedikation

Protokollverstöße bezüglich der Begleitmedikation werden wie folgt gehandhabt:

- Beruht der Protokollverstoß auf einer mangelnden Wirksamkeit des Prüfpräparates (z.B. zusätzliche Einnahme von Analgetika wegen Gelenkschmerzen), so muss der Patient die Studie abbrechen und wird als Therapieversager in die Per-protocol-Auswertung einbezogen.
- Beruht der Protokollverstoß nicht auf einer mangelnden Wirksamkeit des Prüfpräparates (z.B. Dosiserniedrigung der begleitenden Basistherapie oder Einnahme von Analgetika gegen Kopfschmerzen), so verbleibt der Patient in der Studie, wird aber aus der Per-protocol-Auswertung ausgeschlossen.

Synovektomie, Synoviorthese

Patienten, die während der Studie eine chirurgische Synovektomie oder eine chemische oder radiologische Synoviorthese erhalten, brechen die Studie als Therapieversager ab.

Physiotherapie

Tritt eine wesentliche Änderung der Art oder Häufigkeit physikalischer Begleittherapien auf, wird folgendermaßen vorgegangen:

- Beruht die Änderung auf einer mangelnden Wirksamkeit des Prüfpräparates, so muss der Patient die Studie abbrechen und wird als Therapieversager in die Per-protocol-Auswertung einbezogen.
- Beruht die Änderung nicht auf einer mangelnden Wirksamkeit des Prüfpräparates, so verbleibt der Patient in der Studie, wird aber aus der Per-protocol-Auswertung ausgeschlossen.

Mangelnde Compliance

Werden weniger als 80%, bezogen auf die im Prüfzeitraum (ab Tag 0) einzunehmenden Dragees, eingenommen, wird der Patient wegen mangelnder Compliance aus der Per-protocol-Auswertung ausgeschlossen.

Datenergänzung bei Studienabbruch

I: Studienabbruch aufgrund mangelnder Wirksamkeit des Prüfpräparates

I A: Falls vor Studienabbruch eine Abschlussvisite durchgeführt werden konnte, werden die bei der Abschlussvisite ermittelten Werte eingesetzt.

I B: Falls keine Abschlussvisite durchgeführt werden konnte, gilt folgende Regelung: Für die Zielparameter Schmerz-VAS, HAQ, Morgensteifigkeit, Gesamturteil Patient und SF-36 werden die Werte eingesetzt, die der Patient zu Hause vor Studienabbruch einträgt. Für die Zielparameter 28-Joint-Count, Gesamturteil des Arztes und BSG / CRP werden jeweils die Mittelwerte der 5 schlechtesten Werte der Patienten dieser Behandlungsgruppe eingesetzt.

I C: Falls der Patient der Aufforderung, die entsprechenden Fragebögen zu Hause auszufüllen, nicht nachkommt, oder der Grund für den Studienabbruch bereits eingetreten ist (z.B. zusätzliche Einnahme von Analgetika wegen Gelenkschmerzen), werden für alle Zielparameter jeweils die Mittelwerte der 5 schlechtesten Werte der Patienten dieser Behandlungsgruppe eingesetzt.

II: Studienabbruch aus anderen Gründen als mangelnder Wirksamkeit

II A: Falls vor Studienabbruch eine Abschlussvisite durchgeführt werden konnte, werden die bei der Abschlussvisite ermittelten Werte eingesetzt.

II B: Falls keine Abschlussvisite durchgeführt werden konnte, gilt folgende Regelung: Für die Zielparameter Schmerz-VAS, HAQ, Morgensteifigkeit, Gesamturteil Patient und SF-36 werden die Werte eingesetzt, die der Patient zu Hause vor Studienabbruch einträgt. Für die Zielparameter 28-Joint-Count und BSG / CRP werden die Werte der zuletzt durchgeführten Untersuchungen eingesetzt. Für das Gesamturteil des Arztes liegt kein Wert vor.

II C: Falls der Patient der Aufforderung, die entsprechenden Fragebögen zu Hause auszufüllen, nicht nachkommt, werden für alle Zielparameter die Werte der zuletzt durchgeführten Untersuchung eingesetzt. Für das Gesamturteil des Arztes liegt kein Wert vor; für das Patientenurteil liegt kein Wert vor, falls der Studienabbruch vor der Visite 3 erfolgt.

Beurteilung der Gruppenhomogenität

Die Vergleichbarkeit der Behandlungsgruppen bezüglich demographischer und anamnestischer Daten wird anhand von Box-Plots oder Kontingenztafeln beurteilt.

Wenn die beiden Behandlungsgruppen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$, zweiseitiger Wilcoxon-Test oder Fisher-Test) in folgenden Kriterien aufweisen, werden diese als Kovariablen in der statistischen Auswertung des Hauptzielkriteriums berücksichtigt:

- Alter (als linearer Faktor)
- Dauer der Erkrankung (als linearer Faktor)
- ACR-Funktionsklasse (als diskreter Faktor)
- Vorbehandlung mit NSAR oder Analgetika (als binärer Faktor)
- Begleittherapie mit Basistherapeutika (als binärer Faktor)
- Begleittherapie mit Glukokortikoiden (als binärer Faktor)

Ermittlung der Wirksamkeit

Die Beurteilung der Wirksamkeit des Weidenrindenextraktes erfolgt auf der Basis der Intention-to-treat-Population, das heißt, auf der Basis aller randomisierter Patienten, die mindestens eine Dosis Prüfmedikament eingenommen haben. Eine zusätzliche Auswertung basierend auf der Per-protocol-Population soll ergänzend vorgenommen werden.

Nur das Hauptzielkriterium wird induktiv ausgewertet, alle Nebenzielkriterien werden deskriptiv bewertet. Das Signifikanzniveau wird für alle Auswertungen auf $\alpha=5\%$ zweiseitig festgesetzt.

Hauptzielparameter Schmerz-VAS

Als Hauptzielkriterium gilt die absolute Veränderung der Schmerz-VAS-Werte von Visite 2 (Tag 0) zu Visite 5 (Tag 42). Die als Differenz (Visite 5 – Visite 2) erhaltenen VAS-Werte der Verum- und Placebogruppe werden durch eine ANCOVA (Analysis of covariance) ausgewertet, wobei die Ausgangsschmerzwerte und das Prüfzentrum als Kovariablen einbezogen werden. Die Therapieunterschiede werden als aus dem Modell geschätzter Effekt mit 95%-Konfidenzintervallen angegeben.

Der Verlauf der Schmerz-VAS-Werte Visite 1, Visite 2, Visite 3, Visite 4, Visite 5 wird mit einem Repeated Measurement ANCOVA-Modell angepasst, wobei der Zeitpunkt als within-subject Faktor und der Ausgangsschmerzwert und das Prüfzentrum als between-subject Faktoren moduliert werden.

Für die Beurteilung der Effektivität werden nur die bei der Arztvisite angegebenen Schmerz-VAS-Werte verwendet. Eine statistische Auswertung der Schmerzeinschätzung des Patienten auf der VAS im Tagebuch ist nicht vorgesehen. Diese Angaben werden nur zur Plausibilitätsbeurteilung herangezogen.

Nebenzielparameter

Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen in der Veränderung der Nebenzielparameter von Baseline zu Studienende werden in einem zweiseitigen Friedman-Test (Joint Count, HAQ, BSG, CRP) bzw. einer zweifaktoriellen Varianzanalyse (Morgensteifigkeit, SF-36, Gesamturteil Arzt und Patient) ausgewertet, wobei das Prüfzentrum als Kovariable definiert wird. Die Gruppenunterschiede in der Anzahl der ACR-20-Responder werden mittels eines zweiseitigen Cochran-Mantel-Haenszel – Tests verglichen, wobei wiederum das Prüfzentrum als Kovariable definiert wird.

3.2.2 Datenmanagement

Die Daten aus den Patientenordnern wurden doppelt in MS-EXCEL[®]-Tabellen eingegeben. Die beiden Tabellensätze wurden gegeneinander abgeglichen und Abweichungen mit Hilfe der Daten in den Patientenordnern geklärt. Die Daten wurden dem Biometrischen Zentrum in Form von MS-EXCEL[®]-Tabellen zur Verfügung gestellt. Die Tabellen wurden in das statistische Analysesystem SAS[®] importiert. Nach Einarbeiten der Korrekturen aus dem „blind review meeting“ wurde die Datenbank geschlossen. Anschließend erhielt das Biometrische Zentrum die Randomisierungsliste in einem verschlossenen Umschlag vom Institut für Medizinische Informationsverarbeitung des Universitätsklinikums Tübingen. Der Umschlag wurde vom Biometriker geöffnet, die Daten in eine MS-EXCEL[®]-Tabelle eingegeben und zweimal kontrolliert. Danach wurden die Daten ebenfalls in das SAS[®]-System importiert und dort mit den Behandlungsdaten zusammengeführt.

4 Ergebnisse

4.1 Untersuchungen zur Pharmakologie

4.1.1 *In vitro*-Untersuchungen

Der Einfluss von Weidenrindenextrakt auf die COX-1- und COX-2-Aktivität und auf die Freisetzung von TNF α und IL-1 β wurde in humanem Vollblut *in vitro* untersucht. Es wurden Vollblut-Testsysteme gewählt, da diese die physiologischen Bedingungen am besten widerspiegeln [Fenner 1997]. Weidenrindenextrakt wurde in Konzentrationen von 10 bis 1000 $\mu\text{g/ml}$ untersucht; Diclofenac, Celecoxib und Dexamethason dienten als Vergleichssubstanzen. Abbildung 10 und Abbildung 11 fassen die Ergebnisse der *in vitro*-Assays zusammen und werden in den folgenden Abschnitten erläutert. Für Weidenrindenextrakt, Celecoxib und Dexamethason sind die Ergebnisse von drei Spendern dargestellt, deren Blutproben in allen Testsystemen untersucht wurden. Aufgrund zu großer Schwankung der Diclofenac-Daten bei diesen drei Spendern sind in der Abbildung 10 für Diclofenac die Ergebnisse eines Vorversuches mit zwei anderen Spendern dargestellt. In den COX-1- und Zytokin-Assays waren die Basalwerte (Proben ohne Hemmstoff und ohne Stimulans) klein im Vergleich zu den Stimulationswerten (Proben ohne Hemmstoff, aber mit Stimulans: maximale Aktivität). Im COX-2-Assay lagen die Basalwerte bei ca. 40-60% der Stimulationswerte, das heißt, es lag bereits eine gewisse Vorstimulation des Blutes vor.

4.1.1.1 Ergebnisse für die Referenzsubstanzen

Die Referenzsubstanzen zeigten eine konzentrationsabhängige Hemmung der COX-1- und COX-2-Aktivität und der TNF α - und IL-1 β -Freisetzung (Abbildung 10). In Abbildung 10 A dürfte es sich bei Spender D bei dem zur niedrigsten Diclofenac-Konzentration gehörenden Messwert um einen falschen Messwert handeln. Folgende IC₅₀-Werte wurden bestimmt: Diclofenac (COX-1-Assay): $0,17 \pm 0,03 \mu\text{M}$; Celecoxib (COX-2-Assay): $2,83 \pm 0,87 \mu\text{M}$; Dexamethason: $0,007 \pm 0,001 \mu\text{M}$ (TNF α -Assay) und $0,004 \pm 0,001 \mu\text{M}$ (IL-1 β -Assay).

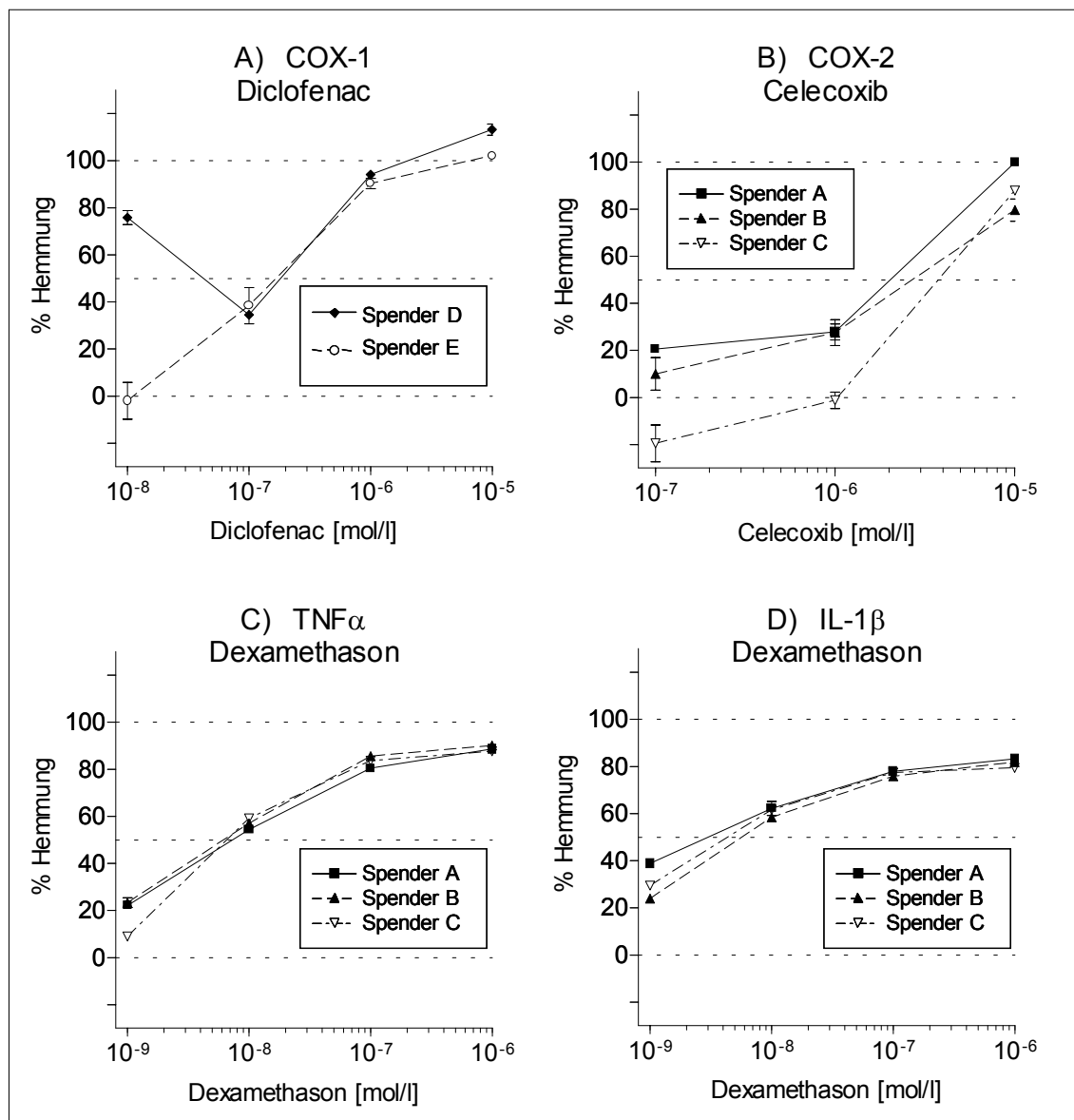


Abbildung 10: Konzentrations-Wirkungs-Kurven für Diclofenac im COX-1-Vollblutassay, Celecoxib im COX-2-Vollblutassay und Dexamethason im TNF α - und IL-1 β -Vollblutassay in vitro. Für die Berechnung der Hemmwerte siehe Abschnitt 3.1.4.6 auf Seite 31. Die Daten stellen Mittelwerte von zwei Bestimmungen \pm Standardabweichung dar.

4.1.1.2 Ergebnisse für den Weidenrindenextrakt

Der Weidenrindenextrakt zeigte eine konzentrationsabhängige Hemmung der COX-1- und COX-2-Aktivität mit IC_{50} -Werten von $34,8 \pm 10,2 \mu\text{g/ml}$ bzw. $59,7 \pm 14,9 \mu\text{g/ml}$. Der Weidenrindenextrakt hemmte ebenfalls die Freisetzung von $\text{TNF}\alpha$ und $\text{IL-1}\beta$, jedoch erst bei etwa 10-fach höheren Konzentrationen im Vergleich zur Zyloxygenase-Hemmung (Abbildung 11). IC_{50} -Werte wurden mit $438,4 \pm 44,8 \mu\text{g/ml}$ bzw. $565,8 \pm 162,8 \mu\text{g/ml}$ bestimmt. Der Vergleich der IC_{50} -Werte für COX-1 und COX-2 zeigt, dass Weidenrindenextrakt eine präferenzielle Hemmung der COX-1 im Vergleich zur COX-2 aufweist (etwa zweifach).

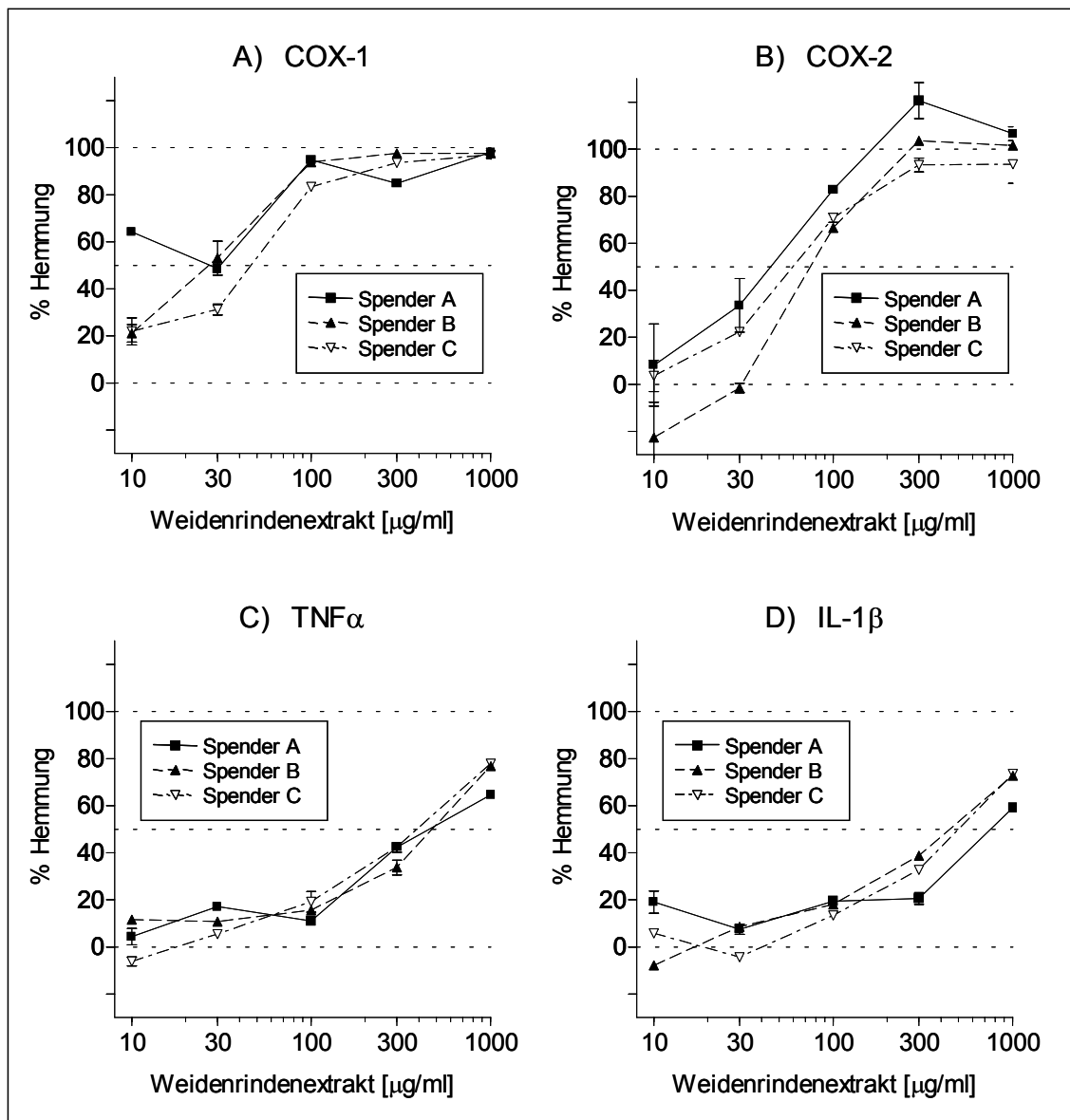


Abbildung 11: Konzentrations-Wirkungs-Kurven für Weidenrindenextrakt im COX-1-, COX-2-, $\text{TNF}\alpha$ - und $\text{IL-1}\beta$ -Vollblutassay in vitro. Für die Berechnung der Hemmwerte siehe Abschnitt 3.1.4.6 auf Seite 31. Die Daten stellen Mittelwerte von zwei Bestimmungen \pm Standardabweichung dar.

4.1.1.3 Schlussfolgerungen zu den in vitro-Untersuchungen

Die verwendeten Methoden sind valide. Die ermittelten IC₅₀-Werte der Referenzsubstanzen Diclofenac (COX-1-Assay), Celecoxib (COX-2-Assay) und Dexamethason (Zytokin-Assay) liegen in der Größenordnung von publizierten Werten dieser Substanzen im Vollblutassay [Finch-Arietta et al. 1991; Foster et al. 1993; Hartman et al. 1995; Brideau et al. 1996; Cryer et al. 1998; Chan et al. 1999].

Vergleicht man die IC₅₀-Werte für COX-2 für Weidenrindenextrakt (60 µg/ml) und die empfohlene Tagesdosis (1600 mg) mit den entsprechenden Werten für Piroxicam (IC₅₀: 3 µg/ml; Tagesdosis 20 mg) [Brideau et al. 1996], so erscheint es zumindest möglich, dass mit therapeutischen Dosen Weidenrindenextrakt pharmakologisch wirksame Blutspiegel erreicht werden können, vorausgesetzt, die wirksamen Bestandteile zeigen eine gute orale Bioverfügbarkeit und eine langsame Elimination. Eine relevante Hemmung der TNF α - oder IL-1 β -Freisetzung in vivo erscheint hingegen unwahrscheinlich, es sei denn, die wirksamen Bestandteile unterliegen einer metabolischen Aktivierung.

4.1.2 Untersuchungen zur Zytotoxizität

Weidenrindenextrakt zeigte in vitro eine Hemmung der COX-1- und COX-2-Aktivität sowie der TNF α - und IL-1 β -Freisetzung (vgl. Abschnitt 4.1.1.2). Um zwischen einer Enzymhemmung und einer Hemmung durch zytotoxische Effekte unterscheiden zu können, wurde der Weidenrindenextrakt auf mögliche zytotoxische Wirkungen untersucht. Im MTT-Assay wird die mitochondriale Aktivität von Zellen als Maß für die Lebensfähigkeit bestimmt. Das Testprinzip beruht auf einer Proportionalität von Absorptionswerten und mitochondrialer Aktivität. Bei der Trypanblau-Färbung wird die Lebensfähigkeit über eine intakte Zellmembran definiert. Die Zellen werden mit Trypanblaulösung angefärbt, wobei nur Zellen mit intakter Zellmembran den Farbstoff ausschließen.

4.1.2.1 MTT-Assay

Die Proben mit Weidenrindenextrakt zeigten höhere Absorptionswerte als die Kontrollproben ohne Weidenrindenextrakt, die die maximale Aktivität darstellen sollten (Tabelle 10). Das heißt, das Testergebnis würde entweder eine Steigerung der mitochondrialen Aktivität oder eine Vermehrung der Zellen durch die Inkubation mit Weidenrindenextrakt bedeuten. Beide Möglichkeiten sind extrem unplausibel. Vielmehr deutet die Abhängigkeit der Absorptionswerte von der Extraktkonzentration darauf hin, dass MTT chemisch durch Bestandteile des Weidenrindenextraktes zu Formazan reduziert wurde.

Tabelle 10: Untersuchung zytotoxischer Effekte des Weidenrindenextraktes an humanen mononukleären Zellen ($2,5 \times 10^6$ Zellen/ml) mit Hilfe des MTT-Assays: Die optische Dichte (OD) der Proben wurde bei 560 nm bestimmt. Die Aktivität der Zellen wird als prozentuale Absorption der Weidenrindenproben bezogen auf den gemittelten Absorptionswert der Kontrollproben ohne Weidenrinde angegeben.

	Probe 1 (OD)	Probe 2 (OD)	Probe 3 (OD)	Mittelwert (OD)	Aktivität (%)
Kontrolle ("maximale Aktivität")	1,688	1,746	1,847	1,666	100,0
Kontrolle ("maximale Aktivität")	1,590	1,569	1,553		
Weidenrindenextrakt 1000 $\mu\text{g}/\text{m}$	3,181	3,341	3,225	3,249	195,1
Weidenrindenextrakt 300 $\mu\text{g}/\text{ml}$	2,367	2,578	2,473	2,473	148,5
Weidenrindenextrakt 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$	1,778	2,004	2,053	1,945	116,8
Weidenrindenextrakt 30 $\mu\text{g}/\text{ml}$	1,565	1,601	1,735	1,634	98,1
Weidenrindenextrakt 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	1,505	1,378	1,503	1,462	87,8

Zur Überprüfung der Hypothese, dass die verstärkte Bildung von Formazan auf eine chemische Reaktion von MTT mit Bestandteilen des Weidenrindenextraktes zurückzuführen ist, wurde parallel zur Zellsuspension (1×10^6 mononukleäre Zellen/ml) reines Medium (Macrophage-SFM-Medium[®]) im MTT-Assay eingesetzt. Tabelle 11 zeigt, dass die optische Dichte und damit die Konzentration an Formazan in den Proben mit Zellsuspension und in den Proben mit Macrophage-SFM-Medium[®] gut übereinstimmt. Das heißt, die Reduktion von MTT zu Formazan findet unabhängig von zellulären Strukturen statt. Die Hypothese wurde bestätigt: MTT wurde durch Bestandteile des Weidenrindenextraktes zu Formazan reduziert. Der MTT-Assay ist zur Bestimmung der Zytotoxizität von Weidenrindenextrakt daher nicht geeignet.

Tabelle 11: Absorption der Weidenrindenproben im MTT-Assay mit humanen mononukleären Zellen (1×10^6 Zellen/ml) bzw. Macrophage-SFM-Medium[®]. Die optische Dichte (OD) der Proben wurde bei 560 nm bestimmt.

	Probe 1 (OD)	Probe 2 (OD)	Probe 3 (OD)	Mittelwert (OD)
Zellsuspension				
Weidenrindenextrakt 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$	2,632	2,808	2,900	2,780
Weidenrindenextrakt 300 $\mu\text{g}/\text{ml}$	1,357	1,421	1,429	1,402
Weidenrindenextrakt 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0,687	0,717	0,744	0,716
Macrophage-SFM-Medium[®]				
Weidenrindenextrakt 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$	2,844	2,860	2,661	2,788
Weidenrindenextrakt 300 $\mu\text{g}/\text{ml}$	1,103	1,646	1,218	1,322
Weidenrindenextrakt 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0,457	0,450	0,444	0,450

4.1.2.2 Trypanblau-Färbung

Blau gefärbte Zellen (tote Zellen) und farblose Zellen (lebensfähige Zellen, Zellen mit intakter Zellmembran) wurden mit Hilfe eines Hämozytometers ausgezählt. In den Proben mit der höchsten Weidenrindenextraktkonzentration (1000 µg/ml) betrug der Prozentsatz lebensfähiger Zellen $93,7 \pm 1,2$ % verglichen mit $96,5 \pm 1,9$ % in den Kontrollassays ohne Weidenrindenextrakt (Tabelle 12).

Tabelle 12: Untersuchung zytotoxischer Effekte des Weidenrindenextraktes an humanen mononukleären Zellen (1×10^6 Zellen/ml) mit Hilfe der Trypanblau-Färbung: Dargestellt ist der Prozentsatz lebensfähiger Zellen \pm Standardabweichung (Dreifachbestimmung)

	Lebensfähige Zellen [%] \pm SD
Weidenrindenextrakt 1000 µg/ml	$93,7 \pm 1,2$
Weidenrindenextrakt 300 µg/ml	$94,6 \pm 3,3$
Weidenrindenextrakt 100 µg/ml	$96,0 \pm 0,4$
Kontrolle ohne Weidenrindenextrakt	$96,5 \pm 1,9$

4.1.2.3 Schlussfolgerungen zu den Untersuchungen zur Zytotoxizität

Die Ergebnisse der Trypanblau-Färbung belegen, dass die in vitro gezeigte Hemmung der COX-1- und COX-2-Aktivität sowie der TNF α - und IL-1 β -Freisetzung (vgl. Abschnitt 4.1.1.2) nicht auf zytotoxische Effekte zurückgeführt werden kann. Der MTT-Assay erwies sich zur Untersuchung der Zytotoxizität von Weidenrindenextrakt als nicht geeignet.

4.1.3 Ex vivo-Untersuchungen: Probandenstudie

Weidenrindenextrakt zeigte in vitro eine Hemmung der COX-1- und COX-2-Aktivität sowie der TNF α - und IL-1 β -Freisetzung (vgl. Abschnitt 4.1.1), die nicht auf zytotoxische Effekte zurückgeführt werden konnte (vgl. Abschnitt 4.1.2). Um zu untersuchen, ob diese in vitro gezeigten Hemmwirkungen auch ex vivo nach oraler Einnahme von Weidenrindenextrakt nachweisbar sind, nahmen drei gesunde Probanden eine Einzeldosis Weidenrindenextrakt (1573 mg, entsprechend 240 mg Salicin) ein. Über einen Zeitraum von 24 Stunden wurden Blutproben entnommen, mit Calciumionophor A23187 (COX-1-Assay) oder LPS (COX-2-, TNF α - und IL-1 β -Assay) stimuliert und die Konzentrationen an PGE₂, TNF α - und IL-1 β mit Hilfe von ELISAs bestimmt. Eine Einzeldosis Diclofenac (150 mg) diente als aktive Vergleichsmedikation und wurde den selben Probanden eine Woche vor der Einnahme von Weidenrindenextrakt oral verabreicht.

4.1.3.1 Baseline-Werte der Probanden

Tabelle 13 zeigt die Konzentrationen an PGE₂, TNF α und IL-1 β in Blutproben der Probanden vor der Einnahme von Diclofenac (Tag 0) und Weidenrinde (Tag 7). Die Konzentrationen in unstimulierten Proben waren gering im Vergleich zu stimulierten Proben. Die Blutproben der einzelnen Probanden reagierten unterschiedlich stark auf die Stimulation. So waren die Werte stimulierter Proben bei Proband 3 deutlich niedriger als bei Proband 1 und 2. Insgesamt lagen die interindividuellen Schwankungen in einer mit Ergebnissen anderer Studien vergleichbaren Größenordnung [Panara et al. 1998; Van Hecken et al. 2000]. Carry-over-Effekte von der ersten Woche (Einnahme von Diclofenac) zur zweiten Woche (Einnahme von Weidenrinde) wurden nicht beobachtet (Tabelle 13).

Tabelle 13: Baseline-Konzentrationen an PGE₂, TNF α und IL-1 β in Blutproben der drei Probanden zum Zeitpunkt t=0 h vor der Einnahme von Diclofenac (Woche 1) oder Weidenrindenextrakt (Woche 2). Die Konzentrationen stellen Mittelwerte von zwei (unstimulierte Proben) bzw. vier Bestimmungen (stimulierte Proben) dar.

		Unstimulierte Proben			Stimulierte Proben		
		Proband			Proband		
		1	2	3	1	2	3
PGE ₂ -Konzentration in COX-1-Assays [ng/ml]	1. Woche	9,4	7,5	13,1	91,0	134,4	31,6
	2. Woche	4,8	5,8	7,3	115,3	255,8	99,2
PGE ₂ -Konzentration in COX-2-Assays [ng/ml]	1. Woche	3,0	4,0	2,4	20,7	17,1	7,8
	2. Woche	6,2	3,2	2,0	38,9	21,5	11,1
TNF α -Konzentration [ng/ml]	1. Woche	0,2	0,4	0,2	5,9	8,1	1,8
	2. Woche	0,0	0,0	0,0	18,1	8,0	2,2
IL-1 β -Konzentration [ng/ml]	1. Woche	0,0	0,1	0,0	7,8	4,5	2,3
	2. Woche	[-0,2]*	[-0,1]*	0,0	13,2	3,9	2,6

*Die Kalibriergerade der entsprechenden ELISA-Assays ergab schwach negative Werte für zwei unstimulierten Proben.

4.1.3.2 Ergebnisse nach der Einnahme von Diclofenac

Abbildung 12 zeigt die Effekte von Diclofenac und Weidenrindenextrakt im Vollblut-assay ex vivo. Die maximale COX-1-Hemmung durch Diclofenac betrug durchschnittlich 88,1% (Spannweite 85,0 – 92,5%) und wurde nach 1 (Proband 1), 2 (Proband 3) bzw. 4 Stunden (Proband 2) erreicht (Abbildung 12, A). Die maximale COX-2-Hemmung betrug durchschnittlich 98,8% (Spannweite 98,4 – 99,0%) und wurde bei jedem Probanden zum gleichen Zeitpunkt wie die maximale COX-1-Hemmung beobachtet (Abbildung 12, B). Die Hemmung der COX-2-Aktivität war zu allen Zeitpunkten zwischen 2 und 24 Stunden statistisch signifikant (t-Test, n=3: t=2 h und t=4 h: p<0,001; t=8 h und t=24 h: p<0,05). Die COX-1-Aktivität war zum Zeitpunkt t=2 h signifikant gehemmt (p=0,0085). Erwartungsgemäß zeigte Diclofenac keine Beeinflussung der TNF α - und IL-1 β -Freisetzung (Abbildung 12, C und D).

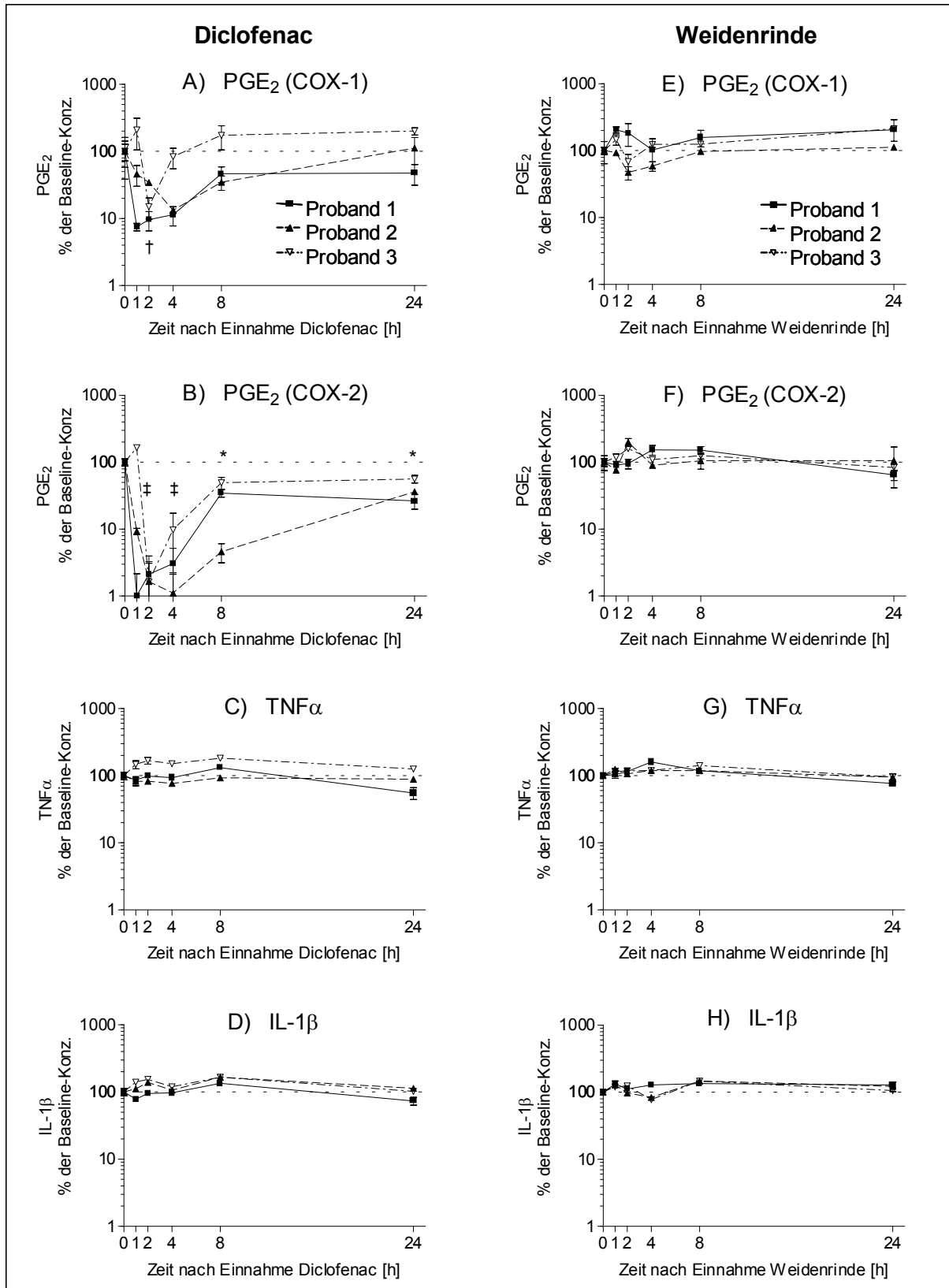


Abbildung 12: Einfluss von Diclofenac und Weidenrindenextrakt auf die Aktivität von COX-1 und COX-2 und auf die Freisetzung von TNF α und IL-1 β nach oraler Einnahme durch drei gesunde Probanden ex vivo. Die Daten stellen Mittelwerte von vier Bestimmungen \pm Standardabweichung dar. Statistisch signifikante Hemmungen (t-Test, n=3) sind folgendermaßen gekennzeichnet: *p<0,05; †p<0,01; ‡p<0,001

4.1.3.3 Ergebnisse nach der Einnahme von Weidenrindenextrakt

Weidenrindenextrakt zeigte in keinem der vier Testsysteme eine signifikante Hemmwirkung. Dies ist deutlich erkennbar für COX-2, TNF α und IL-1 β (Abbildung 12, F, G und H). Im COX-1-Assay war bei Proband 2 eine mäßige Hemmung nach 2 und 4 Stunden zu erkennen, bei Proband 1 hingegen zeigte sich eine Steigerung der COX-1-Aktivität (Abbildung 12, E). Zu keinem Zeitpunkt waren die Veränderungen der COX-1-Aktivität statistisch signifikant.

4.1.3.4 Schlussfolgerungen zu den ex vivo-Untersuchungen

Die in den in vitro-Untersuchungen beobachtete Hemmung der COX-1- und COX-2-Aktivität sowie der TNF α - und IL-1 β -Freisetzung durch Weidenrindenextrakt konnte ex vivo nach oraler Einnahme von Weidenrindenextrakt durch Probanden nicht festgestellt werden. Offensichtlich erreichten die für die in vitro-Effekte verantwortlichen Inhaltsstoffe keine ausreichend hohen Serumkonzentrationen. Auf Basis dieser Untersuchungen scheidet eine COX- oder Zytokinhemmung als Wirkmechanismus einer oralen Therapie mit dem untersuchten Weidenrindenextrakt aus.

4.2 Klinische Studie

4.2.1 Vorbemerkung

Die Ergebnisse dieser Studie wurden im biometrischen Bericht in tabellarischer Form dargestellt und aus biometrischer Sicht kommentiert [Lüdtke 2003]. Entsprechend den Empfehlungen der EMEA [1995] wurde für diese Studie ein umfassender Abschlussbericht erstellt, in den Teile des biometrischen Berichts übernommen wurden [Wagner 2003]. Die in diesem Kapitel dargestellten Ergebnisse wurden dem Abschlussbericht entnommen, wobei die Beschreibung der statistischen Verfahren und die Bewertung der Studienergebnisse aus statistischer Sicht an den biometrischen Bericht angelehnt sind.

4.2.2 Ethische und rechtliche Aspekte

Das Studienprotokoll (Version 6 vom 28.03.2001) sowie die Amendments zum Studienprotokoll Nr. 1 (gültig ab 06.08.2001), Nr. 2 (gültig ab 17.09.2001), Nr. 3 (gültig ab 01.01.2002) und Nr. 4 (gültig ab 05.02.2002) wurden von den Ethik-Kommissionen der Medizinischen Fakultät des Universitätsklinikums Tübingen und der Landesärztekammer in Stuttgart genehmigt. Die Studie wurde den Regierungspräsidien Tübingen und Stuttgart sowie dem BfArM angezeigt (Vorlagennummer des BfArM: 4017660). Für die Studienteilnehmer wurde im Rahmen des Jahresvertrages der Universität Tübingen (Nr. 88960-14) eine Versicherung bei der Inter Allgemeine Versicherungs AG, Köln, abgeschlossen.

Die klinische Studie wurde in Übereinstimmung mit der revidierten Fassung der Deklaration von Helsinki (Edinburgh 2000) und den Leitlinien zur Guten Klinischen Praxis (ICH harmonised tripartite guideline for good clinical practice, CPMCP/ICH/135/95) durchgeführt.

Die Aufklärung der Patienten durch den Prüfarzt sowie das Einholen des Einverständnisses zur Studienteilnahme erfolgte bei der Screening-Visite (Visite 1), bevor Maßnahmen im Rahmen der Studie an den Patienten durchgeführt wurden. Alle Patienten wurden vom Prüfarzt schriftlich und mündlich über Art und Ziel der klinischen Prüfung sowie alle damit im Zusammenhang stehenden Maßnahmen, Chancen und Risiken informiert. Alle Patienten nahmen freiwillig an der Studie teil und gaben ihr schriftliches Einverständnis zur Studienteilnahme.

4.2.3 Einhaltung des Studienprotokolls

Grundlage für die Durchführung der klinischen Studie waren die Bestimmungen des Studienprotokolls (siehe Abschnitt 3.2.1). Diese wurden weitestgehend umgesetzt. Die folgenden Abschnitte beschreiben Aspekte zur Einhaltung des Studienprotokolls und führen Abweichungen von den ursprünglichen Vorgaben auf.

4.2.3.1 Qualitätskontrollen

Vor Beginn der Patientenrekrutierung wurden in jedem Prüfzentrum die beteiligten Ärzte und Sprechstundenpersonal in die Studienabläufe eingewiesen. Schriftliche Handlungsanweisungen (SOPs, Standard Operating Procedures) sollten standardisierte Arbeitsabläufe in den Prüfzentren ermöglichen. Während der Studie wurde durch regelmäßige Monitorbesuche in den Prüfzentren sichergestellt, dass die klinische Prüfung gemäß Studienprotokoll, SOPs, Guter Klinischer Praxis (GCP) und geltenden gesetzlichen Bestimmungen durchgeführt und dokumentiert wurde. Die Eintragungen in den im Rahmen der Studie geführten Patientenordnern wurden stichprobenweise mit den Originaldaten der Patientenakten verglichen.

Alle Laboratorien, die Untersuchungen im Rahmen der Studie durchführten, nahmen an den üblichen Ringversuchen teil; es lagen aktuelle Zertifikate für die erhobenen Laborwerte vor.

Die Stabilität der Studienmedikation wurde während der Studiendurchführung mehrfach durch die Firma Robugen überprüft (Weidenrindendragees: Mai 2001 und Mai 2002; Placebodragees: Mai 2002). Die Ergebnisse aller durchgeführten Stabilitätsuntersuchungen entsprachen den Prüfvorschriften, und die Freigabe der Chargen wurde verlängert (zuletzt bis zum 22.11.2002).

Die formale GCP-Konformität der Studie wurde durch ein externes Audit am 20.06.2002 durch Herrn Dr. Dr. Michael Kroll, Klifo-Med GmbH in Kleve, bestätigt.

4.2.3.2 Anzahl der Studienpatienten

89 Patienten wurden für eine Studienteilnahme gescreent, 54 Patienten wurden vorläufig aufgenommen und begannen die Auswaschphase, und 26 Patienten wurden randomisiert. Wie Abbildung 13 zeigt, verlief die Patientenrekrutierung von Juni 2001 bis Oktober 2002 relativ stetig, jedoch langsamer als erwartet. Im Oktober 2002 wurde die Einschlussphase der Studie beendet, obwohl die Anzahl randomisierter Patienten noch deutlich unter der ursprünglich geplanten Fallzahl von 90 Patienten lag.

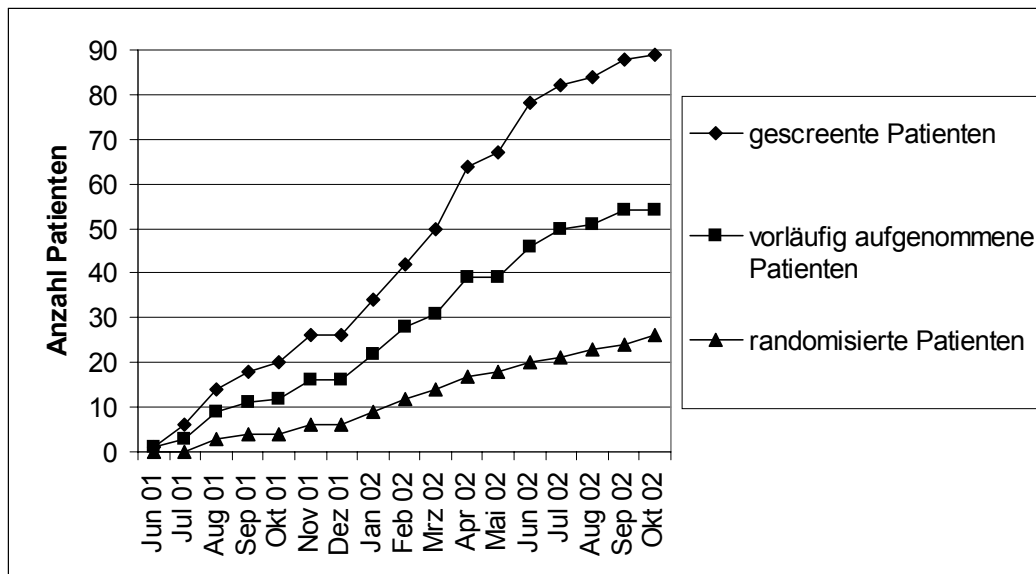


Abbildung 13: Rekrutierungsraten gescreenter, vorläufig aufgenommener und randomisierter Patienten (alle Prüfzentren)

4.2.3.3 Compliance

Einhalten der Zeitfenster

5 Patienten hielten bei einzelnen Visiten die im Studienprotokoll definierten Zeitfenster (Visite 1: Tag -4 bis Tag -10 ; Visite 3: Tag 14 ± 3 , Visite 4: Tag 28 ± 3 und Visite 5: Tag 42 ± 3) nicht ein (Random-Nr. 448, 551, 552, 553, 554; siehe Tabelle 14 im folgenden Abschnitt). Diese 5 Patienten führten die Studie in niedergelassenen rheumatologischen Praxen durch, wo es durch den Praxisbetrieb und Urlaubszeiten zu Termenschwierigkeiten kam.

Im Durchschnitt entsprachen die Dauern der einzelnen Prüfphasen den Bestimmungen des Studienprotokolls. Die Auswaschphase dauerte durchschnittlich 6,7 Tage, die Wochen 1+2 13,5 Tage, die Wochen 3+4 14,8 Tage und die Wochen 5+6 14,0 Tage. Bezüglich der Behandlungsdauern waren die beiden Behandlungsgruppen vergleichbar.

Medikamentencompliance

Bezogen auf die gesamte Prüfphase (Woche 1 bis 6) wurden in der Weidenrindengruppe 95,4% der Dragees eingenommen, in der Placebogruppe 98,7% der Dragees. Nur ein Patient in der Weidenrindengruppe erreichte die für die Zugehörigkeit zur Per-protocol-Population vorgeschriebene Mindestcompliance von 80% bezogen auf die gesamte Prüfphase nicht (Random-Nr. 552: nur 78%).

4.2.3.4 Protokollverstöße

Tabelle 14 listet Verstöße einzelner Patienten gegen Bestimmungen des Studienprotokolls auf. Fehlende Skalenwerte des SF-36 werden nicht als Protokollverstoß aufgeführt, da nur Teile des Fragebogens nicht auswertbar sind.

Insgesamt wurden 14 Protokollverstöße bei 10 Patienten festgestellt (6 Weidenrinde, 4 Placebo), die großteils zum Ausschluss des betreffenden Patienten aus der Per-protocol-Population geführt haben (vgl. Abschnitt 4.2.4.3).

Tabelle 14: Protokollverstöße. Zur Zuteilung der Patienten zur Per-protocol-Population siehe Abschnitt 4.2.4.3.

Random-Nr.	Therapie	Prüfzentrum	Protokollverstoß	PP-Population
409	W	Tübingen	- Wesentliche Änderung der physikalischen Begleittherapie (Ende der Elektrotherapie an den Knien am Tag 22), die nicht auf mangelnder Wirksamkeit beruht.	nein
448	W	Stuttgart	- Visite 5 nicht im vorgesehen Zeitfenster (erst an Tag 48)	nein
549	W	Heidelberg	- Studienabbruch vor der Visite 3 (kein Therapieversager)	nein
551	W	Heidelberg	- Visite 5 nicht im vorgesehen Zeitfenster (bereits an Tag 37) - Fehlender Wert für GOT bei Visite 1 (Ausschlusskriterium)	nein
552	W	Heidelberg	- GGT > 50 U/l (61 U/l), Ausschlusskriterium missachtet - Keine Auswaschphase, Visite 1=Visite 2 - Visite 4 nicht im vorgesehenen Zeitfenster (erst am Tag 41; Studienabbruch), Compliance unter 80%	nein
553	W	Heidelberg	- Arava® (Leflunomid) noch keine 6 Monate vor Studienbeginn eingenommen (seit 110 Tagen, Dosis konstant): Ausschlusskriterium missachtet - Visite 3 nicht im vorgesehenen Zeitfenster (erst an Tag 20)	nein
405	P	Tübingen	- Fehlender Wert für BSG bei Visite 2	ja
500	P	Filderstadt	- Visite 2: HAQ nur 4 von 8 Komponenten beantwortet: Standard Disability Index (Baseline) kann nicht berechnet werden	ja
554	P	Heidelberg	- Keine Auswaschphase, Visite 1=Visite 2	nein
556	P	Heidelberg	- Einnahme von Schmerzmitteln wegen Kopfschmerzen während Auswasch- und Prüfphase (Tag -5: 1 Kapsel Migräneron®, Tag 5: 1 Kapsel Migräneron®, Tag 11: 1 Tablette Aspirin®)	nein

W: Weidenrinde, P: Placebo

4.2.3.5 Randomisierung

Bei regelmäßigen Monitorbesuchen wurde sichergestellt, dass die Patienten in allen Prüfzentren streng nach aufsteigenden Randomnummern eingeschlossen wurden. Die Ärzte wurden erst nach Abschluss der Studie über die Blockgröße informiert. Es ergaben sich keine Hinweise auf Unregelmäßigkeiten bei der Randomisierung.

4.2.3.6 Verblindung

Für keinen der 26 Studienpatienten wurde die Verblindung während der Studie aufgehoben. Die Notfallumschläge wurden regelmäßig bei den Monitorbesuchen auf ihre Unversehrtheit überprüft. Erst nach der Abschlusssitzung („blind review meeting“) und dem Abschluss der Dateneingabe wurde die Entblindung vom Biometriker vorgenommen. Beim Monitoring der Studie ergaben sich keine Hinweise auf eine mögliche Entblindung von Patienten oder Ärzten.

Bei der Abschlussvisite wurden Patienten und Ärzte befragt, ob sie zu wissen glaubten, mit welchem Prüfpräparat (Weidenrinde oder Placebo) der Patient behandelt wurde. Tabelle 15 und Tabelle 16 zeigen die Ergebnisse dieser Einschätzungen. Nur 4 von 26 Patienten vermuteten sich in der Weidenrindengruppe (1 richtigerweise, 3 fälschlicherweise), und nur in 5 von 23 Fällen vermuteten die Ärzte die Patienten in der Weidenrindengruppe (3 richtigerweise, 2 fälschlicherweise). Dies zeigt zum einen, dass Patienten und Ärzte in den meisten Fällen keinen deutlichen Therapieerfolg empfanden, und zum anderen, dass keine Hinweise auf eine Entblindung vorliegen.

Tabelle 15: Vermutung der Patienten über die Gruppenzuordnung. Angegeben ist die Anzahl der Patienten mit der entsprechenden Vermutung.

Therapie	Vermutung des Patienten über die Gruppenzuordnung		
	Keine Vermutung	Placebo	Weidenrinde
Weidenrinde	7	5	1
Placebo	2	8	3

Tabelle 16: Vermutung der Ärzte über die Gruppenzuordnung der Patienten. Angegeben ist die Anzahl der Patienten, auf die die jeweilige Vermutung zutrifft.

Therapie	Vermutung des Arztes über die Gruppenzuordnung			
	Keine Angabe	Keine Vermutung	Placebo	Weidenrinde
Weidenrinde	1	3	6	3
Placebo	2	4	5	2

Arzt- und Patientenvermutungen stimmten bei ca. 65% der Patienten, für die sowohl Arzt als auch Patient eine Vermutung angegeben hatten, überein (bei 6 von 12 Weidenrindenpatienten und bei 9 von 11 Placebopatienten) (Tabelle 17).

Tabelle 17: Übereinstimmung der Arzt- und Patientenvermutungen über die Gruppenzuordnung. Übereinstimmende Vermutungen sind grau unterlegt.

	Weidenrindengruppe				Placebogruppe			
	Patientenvermutung				Patientenvermutung			
	Keine Vermut.	Placebo	Weidenrinde	Gesamt	Keine Vermut.	Placebo	Weidenrinde	Gesamt
Arztvermutung								
Keine Angabe	1	0	0	1	0	2	0	2
Keine Vermut.	2	1	0	3	2	1	1	4
Placebo	3	3	0	6	0	5	0	5
Weidenrinde	1	1	1	3	0	0	2	2
Gesamt	7	5	1	13	2	8	3	13

4.2.3.7 Statistische Auswertung

Gemäß den Vorgaben des Studienprotokolls erfolgte die **primäre Auswertung** auf Basis der Intention-to-treat-Population. Eine **zusätzliche Auswertung** wurde auf Basis der Per-protocol-Population vorgenommen.

Nur das **Hauptzielkriterium** wurde **induktiv** ausgewertet, alle **Nebenzielkriterien** wurden **deskriptiv** bewertet. Falls sich in den Nebenzielkriterien p-Werte unter 5% ergaben, wird, statt von statistischer Signifikanz, von statistischer Auffälligkeit gesprochen, um den deskriptiven Charakter der Auswertung deutlich zu machen.

Alle **Gruppenvergleiche vor Therapiebeginn** basieren auf einfachen 2-Stichproben-Tests. Eine induktive Interpretation ist nicht sinnvoll. Bei stetigen Parametern wurde abweichend vom Studienprotokoll der Kruskal-Wallis-Test gewählt, der sich in diesem Fall nur unwesentlich vom Wilcoxon-Test unterscheidet: Es wird lediglich statt einer Approximation an eine Normalverteilung eine Approximation an eine Chi-Quadrat-Verteilung verwendet. Nominal skalierte Parameter wurden über Chi-Quadrat-Tests (Studienprotokoll: Fisher-Tests) verglichen.

Die **Auswertung des Hauptzielkriteriums** erfolgte durch eine ANCOVA (Analysis of covariance) unter Einbeziehung des Prüfzentrums und des Ausgangsschmerzwertes (Visite 2) als Kovariablen. Sie entspricht damit den Vorgaben des Studienprotokolls.

Die **Auswertung der stetig skalierten Nebenzielkriterien** weicht von den Vorgaben des Studienprotokolls ab, indem, analog zum Vorgehen beim Hauptzielkriterium, ANCOVA-Modelle an die Daten angepasst wurden. Die Nebenzielkriterien 28-Joint-Count, HAQ Disability Index, Morgensteifigkeit, SF-36-Dimensionen, BSG- und CRP-

Laborwerte wurden durch ANCOVA-Modelle ausgewertet, bei denen der jeweilige Baseline-Wert und das Prüfzentrum als Kovariablen geführt wurden. Für die Parameter, für die kein Baseline-Wert vorlag (Gesamturteil Patient, Gesamturteil Arzt), wurde ein ANCOVA-Modell angepasst, in dem lediglich das Prüfzentrum als Kovariable modelliert wurde. Nach Inspektion der Daten schien es in allen Fällen gerechtfertigt, von einer annähernden Normalverteilungsannahme auszugehen, die einer ANCOVA zugrunde liegt. Die Auswertung der Nebenzielkriterien durch ANCOVA-Modelle bot den Vorteil, dass alle Zielkriterien mit der gleichen Vorgehensweise konsistent ausgewertet wurden. Außerdem sind die Ergebnisse einer ANCOVA leichter zu interpretieren, da zusätzlich zum p-Wert auch geschätzte Effektgrößen angegeben werden können.

Für die **Auswertung der Anzahl der ACR-20-Responder** wurde, entsprechend den Vorgaben des Studienprotokolls, ein Cochran-Mantel-Haenszel-Test angewendet, bei dem die Zentren als Stratifizierungsvariable dienten. Aufgrund der geringen Fallzahlen in der Per-protocol-Auswertung wurde statt des Cochran-Mantel-Haenszel-Tests ein Chi-Quadrat-Test durchgeführt, da eine Stratifizierung nach Zentren nicht möglich war.

Fehlende Werte wurden nach den Maßgaben des Studienprotokolls ersetzt.

4.2.3.8 Schlussfolgerungen zur Einhaltung des Studienprotokolls

6 der 14 Protokollverstöße stellen Abweichungen von den vorgegebenen Zeitfenstern dar, die sich aus den Schwierigkeiten einer Studiendurchführung in ambulanten Praxen zusätzlich zum regulären Praxisbetrieb ergeben. Von wenigen Ausnahmen abgesehen, wurden Ein- und Ausschlusskriterien und die Vorgaben bezüglich der Begleittherapien eingehalten. Die Dokumentation in den Patientenordnern war weitestgehend vollständig.

Die Randomisierung und die Verblindung sind zentrale Punkte des Studiendesigns. Wie in den Abschnitten 4.2.3.5 und 4.2.3.6 dargestellt, ist in dieser Studie von einer erfolgreichen Randomisierung und Verblindung auszugehen.

Die statistische Auswertung des Hauptzielkriteriums erfolgte protokollgemäß; nur bei der Auswertung der Nebenzielkriterien wurden begründete Änderungen vorgenommen. Natürlich stellt auch die Randomisierung von nur 26 anstelle der vorgesehenen 90 Patienten eine Abweichung vom Studienprotokoll dar. Diese beeinflusst jedoch nicht die Qualität der erhobenen Daten, sondern lediglich die statistische Aussagekraft der Studie, was im Abschnitt 4.2.6.6 diskutiert wird.

Zusammengefasst lässt sich festhalten, dass die Studie in guter Übereinstimmung mit den Bestimmungen des Studienprotokolls und der GCP-Guideline durchgeführt wurde und dass die erhobenen Daten glaubwürdig sind.

4.2.4 Studienpatienten

4.2.4.1 Einteilung der Studienpatienten

Abbildung 14 zeigt in einem Flussdiagramm die Anzahl der Patienten in den verschiedenen Phasen der Studie. 89 Patienten wurden gescreent. 35 Patienten wurden bereits bei der Visite 1 von einer Studienteilnahme ausgeschlossen. Die häufigsten Ursachen für Screening failures bei der Visite 1 stellten eine ungenügende Krankheitsaktivität (14 Patienten) und das Fehlen der Einschlussdiagnose Rheumatoide Arthritis (12 Patienten) dar. 4 Patienten konnten aufgrund einer unzulässigen Begleitmedikation nicht an der Studie teilnehmen. 2 Patienten lehnten die Einwilligung ab, 1 Patient erfüllte das Ausschlusskriterium Funktionsstadium IV, und 1 Patient hatte eine Salicylatallergie. 1 Patient wurde aufgrund einer hochaktiven RA und ethischer Bedenken des Prüfarztes von der Studienteilnahme ausgeschlossen. 54 Patienten genügten den bei der Visite 1 überprüften Ein- und Ausschlusskriterien und begannen die Auswaschphase (vorläufig aufgenommene Patienten). Während der Auswaschphase brachen 4 Patienten die Studie ab; 3 aufgrund von Schmerzen und 1 aufgrund einer neu diagnostizierten Nierenerkrankung. Von 50 Patienten, die sich nach Abschluss der Auswaschphase bei der Visite 2 vorstellten, genügten 24 den bei der Visite 2 überprüften Ein- und Ausschlusskriterien nicht: 20 Patienten erfüllten nicht die geforderten Aktivitätskriterien, bei 2 Patienten konnte anhand des Röntgenbildes und der Ergebnisse der Rheumafaktorbestimmung die Diagnose Rheumatoide Arthritis nicht verifiziert werden, und 2 Patienten wiesen einen erhöhten Leberwert (Gamma-GT) auf. Somit wurden insgesamt 26 Patienten randomisiert, 13 Patienten pro Behandlungsgruppe: Tübingen 6 Weidenrinde, 6 Placebo; Heidelberg 5 Weidenrinde, 5 Placebo; Stuttgart und Filderstadt je 1 Weidenrinde, 1 Placebo.

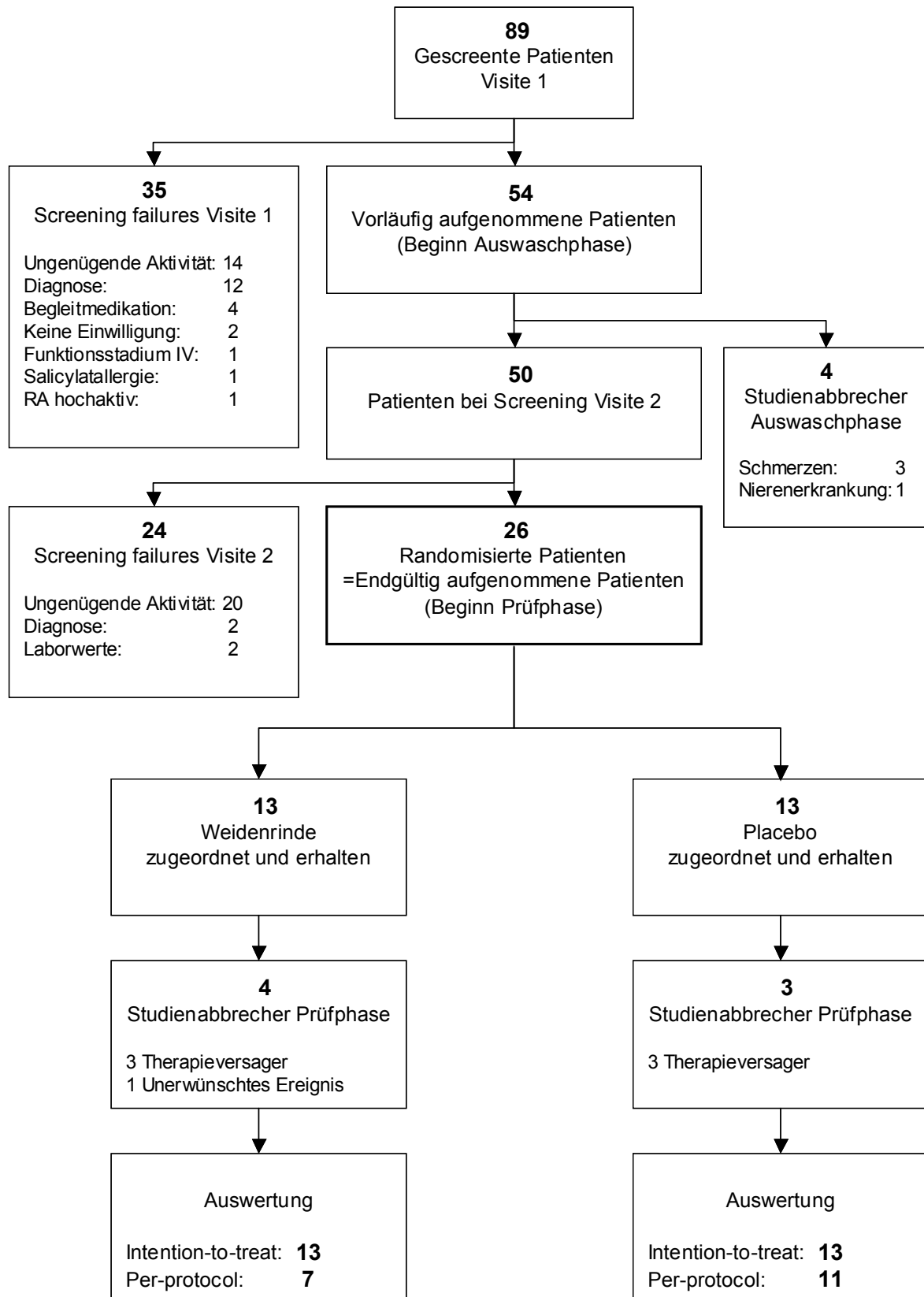


Abbildung 14: Patienten-Flussdiagramm für alle Prüfzentren

4.2.4.2 Studienabbrüche

Während der Prüfphase brachen 7 Patienten die Studie ab: 6 aufgrund von Schmerzen und des Bedarfs an zusätzlichen Analgetika (3 Weidenrinde, 3 Placebo), und 1 Patient der Weidenrindengruppe aufgrund eines Bandscheibenvorfalles (Tabelle 18). Bei keinem Patienten wurde die Verblindung aufgehoben. Bei nur einem Patienten (Random-Nr. 549) führte der Studienabbruch zum Ausschluss aus der Per-protocol-Population, da der Abbruch vor der Visite 3 erfolgte.

Tabelle 18: Studienabbrecher während der Prüfphase. Die Kategorien beziehen sich auf die Regeln zur Datenergänzung (Abschnitt 3.2.1.13, „Datenergänzung bei Studienabbruch“)

Random-Nr.	Therapie	Prüfzentrum	Studienabbruch Tag	Grund	Abschlussvisite vor Abbruch	Fragebögen vor Abbruch ausgefüllt	Abbruchvisite: Tage nach Abbruch	Kategorie
408	W	Tübingen	27	Schmerzen	ja			I A
501	W	Filderstadt	5	Schmerzen	ja			I A
549	W	Heidelberg	6	Bandscheibenvorfall	nein	nein	36	II C
552	W	Heidelberg	41	Schmerzen	ja			I A
449	P	Stuttgart	23	Schmerzen	ja			I A
550	P	Heidelberg	12	Schmerzen, Einnahme von NSAR (2 x 8 mg Lornoxicam)	nein	ja	3	I B
556	P	Heidelberg	14	Schmerzen, Einnahme von NSAR (100 mg Diclofenac)	nein	nein	0*	I C

W: Weidenrinde, P: Placebo

* Die Abbruchvisite fand am Tag des Studienabbruchs statt, nachdem der Patient bereits NSAR eingenommen hatte.

4.2.4.3 Patientenpopulationen

Alle 26 randomisierten Patienten (13 Weidenrinde, 13 Placebo) sind Teil der **Intention-to-treat-Population**.

Über die Zuteilung der Patienten zur **Per-protocol-Population** wurde vor der Entblindung im „blind review meeting“ entschieden. Dabei fanden die Definitionen des Studienprotokolls (Abschnitt 3.2.1.13) Anwendung. Ergänzend wurde festgelegt, dass fehlende Baseline- oder Abschlusswerte nur dann zum Ausschluss aus der Per-protocol-Population führen, wenn sie das Hauptzielkriterium (Schmerz-VAS) betreffen. Fehlende Werte für Nebenzielkriterien führen nicht zum Ausschluss aus der Per-protocol-Population. Wie Tabelle 14 auf Seite 65 zeigt, wurden 8 Patienten aufgrund von Protokollverstößen von der Per-protocol-Population ausgeschlossen, wobei deutlich mehr Weidenrindenpatienten (6) als Placebopatienten (2) ausgeschlossen wurden. Somit sind insgesamt 18 Patienten (7 Weidenrinde, 11 Placebo) Teil der Per-protocol-Population. Tabelle 34 im Tabellenanhang listet alle randomisierten Patienten, einschließlich der Zuteilung zur PP-Population, auf.

4.2.5 *Baseline-Daten*

4.2.5.1 Demographische Daten

Tabelle 19: Demographische Baseline-Daten

Messgröße	Weidenrinde (n=13)	Placebo (n=13)
Geschlecht, n (%)		
männlich	3 (23)	1 (8)
weiblich	10 (77)	12 (92)
Mittleres Alter, Jahre (SD)	56,5 (8,9)	60,1 (11,0)
Mittlere Körpergröße, cm (SD)	166,5 (6,9)	165,1 (8,3)
Mittleres Körpergewicht, kg (SD)	70,9 (11,7)	68,5 (11,3)
Patienten mit chronischen Begleiterkrankungen, n (%)	5 (38)	8 (62)

Die Behandlungsgruppen waren hinsichtlich ihrer demographischen Parameter vergleichbar (Tabelle 19). Es gab keine statistisch auffälligen Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen (Nominaldaten: Chi-Quadrat-Test, stetige Daten: Kruskal-Wallis-Test).

4.2.5.2 Krankheitsbezogene Daten

Die Studienteilnehmer litten im Durchschnitt seit ca. 12 Jahren an Rheumatoider Arthritis, wobei die Patienten der Placebogruppe im Vergleich zu den Patienten der Weidenrindengruppe im Mittelwert eine etwas längere Krankheitsdauer aufwiesen (Tabelle 20). Der Median lag hingegen in beiden Gruppen bei 10 Jahren. Die maximale Krankheitsdauer betrug in der Weidenrindengruppe 18 Jahre, während in der Placebogruppe 4 Patienten Krankheitsdauern von über 18 Jahren aufwiesen (20, 27, 30 und 36 Jahre). Ca. 70% der Patienten waren bezüglich des Rheumafaktors seropositiv. Radiologische Veränderungen waren bei ca. 90% der Patienten nachweisbar. 65% der Studienteilnehmer hatten vor Studienbeginn NSAR oder Analgetika eingenommen, wobei etwa die Hälfte dieser Patienten NSAR oder Analgetika nicht regelmäßig, sondern nur bei Bedarf einnahmen. 8 Patienten erhielten keine Basistherapie, 10 Patienten erhielten 1 Basistherapeutikum und 8 Patienten eine Kombination von mindestens 2 Basistherapeutika. Ca. 40% der Patienten nahmen orale Glukokortikoide (maximal 7,5 mg pro Tag) ein. Die Hälfte der Studienteilnehmer erhielt begleitende physikalische Therapien. Eine statistische Auswertung der RA-Baseline-Daten (Nominaldaten: Chi-Quadrat-Test, stetige Daten: Kruskal-Wallis-Test) ergab keine statistisch auffälligen Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen. Es wurden keine Zentrumseffekte festgestellt.

Tabelle 20: Baseline-Daten der Rheumatoiden Arthritis

Messgröße	Weidenrinde (n=13)	Placebo (n=13)
Dauer der RA, Jahre (SD)	9,4 (5,3)	13,8 (11,5)
Funktionsklasse, n (%)		
Funktionsklasse I	1 (8)	2 (15)
Funktionsklasse II	9 (69)	8 (62)
Funktionsklasse III	3 (23)	3 (23)
Rheumafaktor nachweisbar, n (%)	10 (77)	9 (69)
Radiologische Veränderungen, n (%)	10 (77)	12 (100)*
Aktivitätskriterien bei Visite 2, n (%)		
≥ 6 druckschmerzhafte Gelenke	10 (77)	9 (69)
≥ 3 geschwollene Gelenke	11 (85)	10 (77)
Morgensteifigkeit ≥ 45 Minuten	10 (77)	9 (69)
BSG 1 Stunde ≥ 28 mm	6 (46)	5 (38)
Vorbehandlung mit NSAR, n (%)	9 (69)	8 (62)
Basistherapie, n (%)		
Monotherapie	2 (15)	8 (62)
Kombinationstherapie	6 (46)	2 (15)
Orale Glukokortikoide, n (%)	5 (38)	6 (46)
Physiotherapie, n (%)	7 (54)	6 (46)

*Für einen Patienten fehlt die Angabe

4.2.5.3 Zielparameter

Die Baseline-Werte (vor Beginn der Prüfphase bei der Visite 2) reflektieren bei allen Zielparametern außer dem CRP eine höhere Krankheitsbelastung der Patienten der Weidenrindengruppe im Vergleich zu den Patienten der Placebogruppe (Tabelle 21). Im Hauptzielparameter, der Schmerzbeurteilung auf einer 10 cm-VAS, zeigte die Weidenrindengruppe einen um 1 cm höheren Baseline-Mittelwert als die Placebogruppe. Abbildung 15 zeigt, dass dieser Unterschied hauptsächlich darauf zurückzuführen ist, dass in der Placebogruppe mehr Patienten relativ geringe Schmerzwerte aufwiesen. Die Mediane unterscheiden sich mit 5,5 cm (Weidenrinde) bzw. 5,1 cm (Placebo) geringer als die Mittelwerte. Patienten der Weidenrindengruppe hatten durchschnittlich 3 druckschmerzhafte und 2 geschwollene Gelenke mehr als die Patienten der Placebogruppe. Auch beim HAQ, der Morgensteifigkeit und der BSG zeigte sich eine höhere Krankheitsaktivität für die Patienten der Weidenrindengruppe. Dies spiegelte sich auch bei den Baseline-Werten des SF-36 wieder, bei dem höhere Werte (max. 100) einen besseren Gesundheitszustand anzeigen. Insgesamt lässt sich festhalten, dass die Weidenrindengruppe einen höheren Anteil schwerer erkrankter Patienten aufwies als die Placebogruppe. Diese Unterschiede sind aufgrund des randomisierten Studiendesigns zufällig.

Eine statistische Auswertung der Baseline-Zielparameter ergab mit Ausnahme des Körperlichen Summenscores (und einzelnen Skalenwerten) des SF-36 keine statistisch auffälligen Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen (p-Wert des Kruskal-Wallis-Tests unter 5%).

Tabelle 21: Baseline-Daten (Tag 0, Visite 2) der Zielparameter. Angegeben sind die Mittelwerte, in Klammern die Standardabweichung. Beim SF-36 bedeuten hohe Werte einen besseren Gesundheitszustand, bei allen anderen Zielparametern bedeuten niedrige Werte einen besseren Gesundheitszustand.

Zielparameter	Weidenrinde (n=13)	Placebo (n=13)	p-Wert (Kruskal- Wallis-Test)
Hauptzielparameter			
Schmerzen (cm)	5,5 (2,0)	4,5 (2,5)	0,218
Nebenzielparameter			
Anzahl druckschmerzhafter Gelenke (max. 28)	11,0 (6,8)	7,9 (5,9)	0,247
Anzahl geschwollener Gelenke (max. 28)	8,2 (7,6)	6,2 (5,4)	0,606
HAQ Disability Index (0-3)	1,2 (0,6)	0,9 (0,6)*	0,133
Morgensteifigkeit (10 cm-VAS)	5,0 (2,9)	4,5 (3,2)	0,758
SF-36			
Körperlicher Summenscore (0-100)	30,8 (7,4)*	41,5 (9,2)**	0,016
Psychischer Summenscore (0-100)	52,2 (11,1)*	54,4 (8,5)**	1,000
BSG 1 Stunde (mm)	27,8 (19,4)	21,0 (10,2)*	
CRP (mg/dl)	1,9 (1,4)	2,0 (1,7)	

*Für einen Patienten fehlt die Angabe

**Für zwei Patienten fehlen die Angaben

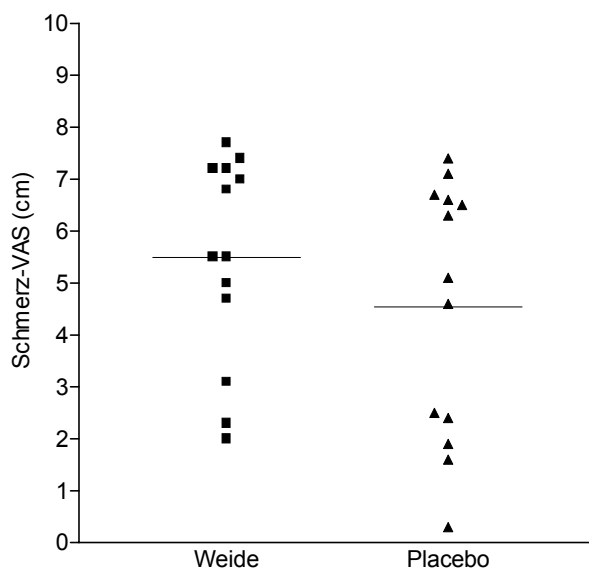


Abbildung 15: Baseline-Werte (Tag 0) der Schmerz-VAS für die 13 Patienten der Weidenrindegruppe und die 13 Patienten der Placebogruppe: Dargestellt sind die Einzelwerte und der Mittelwert der jeweiligen Behandlungsgruppe (Scatter-Plot)

4.2.6 Auswertungen zur Wirksamkeit

Die Ergebnisse für die einzelnen Zielparameter werden in den folgenden Abschnitten (4.2.6.1 bis 4.2.6.4) dargestellt und abschließend in Tabelle 27 auf Seite 92 (Intention-to-treat-Auswertung) und Tabelle 28 auf Seite 93 (Per-protocol-Auswertung) zusammengefasst.

4.2.6.1 Intention-to-treat-Auswertung des Hauptzielparameters

Abbildung 16 (links) und Tabelle 35 (Tabellenanhang) zeigen den Verlauf der Absolutschmerzwerte (Angaben auf der VAS bei den einzelnen Visiten) für die Intention-to-treat-Population. Während des gesamten Studienverlaufs hatten die Patienten der Weidenrindengruppe höhere absolute Schmerzwerte als die Patienten der Placebogruppe. Zu Therapiebeginn (Baseline, Tag 0) betrug dieser Unterschied 1 cm. Während der Auswaschphase verschlechterten sich die Patienten beider Gruppen leicht. Berücksichtigt man, dass 65% der Patienten mit Beginn der Auswaschphase NSAR oder Analgetika abgesetzt hatten, war dieser Anstieg der Schmerzwerte allerdings recht gering.

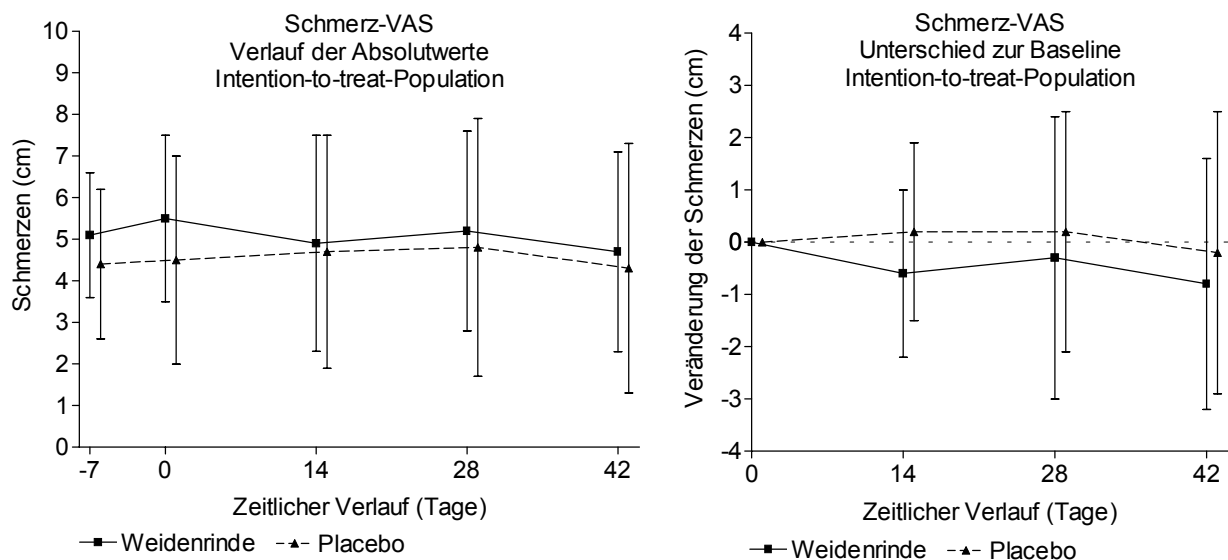


Abbildung 16: Verlauf der Schmerz-VAS-Werte für die Intention-to-treat-Population. Links: Absolutwerte \pm SD, rechts: Veränderung im Vergleich zur Baseline \pm SD

Die durchschnittliche Standardabweichung betrug für die Schmerz-Absolutwerte 2,42 cm, für die Schmerzveränderung 2,23 cm. Im Studienprotokoll wurde eine Standardabweichung der Schmerz-VAS-Werte von durchschnittlich 2,54 cm angenommen. Somit lag die Schwankung der Messwerte im erwarteten Bereich.

Abbildung 16 (rechts) und Tabelle 36 (Tabellenanhang) zeigen die Veränderung der Schmerzwerte im Vergleich zum Baseline-Wert am Tag 0. Das durchschnittliche Schmerzniveau lag für die Patienten der Weidenrindengruppe während der gesamten Prüfphase unter dem Baseline-Niveau. Zu Studienende (Tag 42) lag der durchschnittliche Schmerzwert 0,8 cm (15%) unter dem Baseline-Wert. Die Patienten der Placebogruppe veränderten sich hingegen nur wenig. Bei ihnen lag der durchschnittliche Schmerzwert zu Studienende 0,2 cm (4%) unter dem Baseline-Wert. Die in der Intention-to-treat-Population gemessene Schmerzverringerung über die sechswöchige Prüfphase war also in der Weidenrindengruppe um 0,6 cm größer als in der Placebogruppe.

Wertet man diesen Gruppenunterschied mit einem ANCOVA-Modell aus, in das das Prüfzentrum und der Baseline-Schmerzwert als Kovariablen eingehen, ergibt sich lediglich ein geschätzter Unterschied in der Veränderung der Schmerz-VAS-Werte von Visite 2 (Tag 0) zu Visite 5 (Tag 42) von $-0,08$ cm (95%-C.I.: $-2,09$ bis $1,93$ cm) zugunsten der Weidenrinde. Dieser Unterschied zwischen den Therapiegruppen ist statistisch nicht signifikant ($p=0,934$).

In dieser Studie gelang es daher nicht, die Wirksamkeit des Weidenrindenextraktes anhand des gewählten Hauptzielparameters statistisch signifikant zu belegen.

Zusätzliche einfache ANCOVA-Analysen zu den Veränderungen der Schmerzen bei den Visiten 3 und 4 zeigen, dass zu keinem Messzeitpunkt der Weidenrindenextrakt Placebo statistisch signifikant überlegen ist (Tabelle 22, Abbildung 17).

Tabelle 22: Ergebnisse der einfachen ANCOVA für die Unterschiede zwischen Weidenrinde und Placebo in der Veränderung der Schmerz-VAS-Werte im Vergleich zu Visite 2 (Baseline, Tag 0) (Intention-to-treat-Population). Negative Werte bedeuten einen Unterschied zugunsten von Weidenrinde.

Einfache ANCOVA (ITT)	Geschätzter Unterschied (cm)	untere Grenze 95%-C.I.	obere Grenze 95%-C.I.	p-Wert
Veränderung bei Visite 3 (Tag 14)	-0,71	-2,21	0,79	0,333
Veränderung bei Visite 4 (Tag 28)	-0,15	-2,25	1,95	0,881
Veränderung bei Visite 5 (Tag 42)	-0,08	-2,09	1,93	0,934

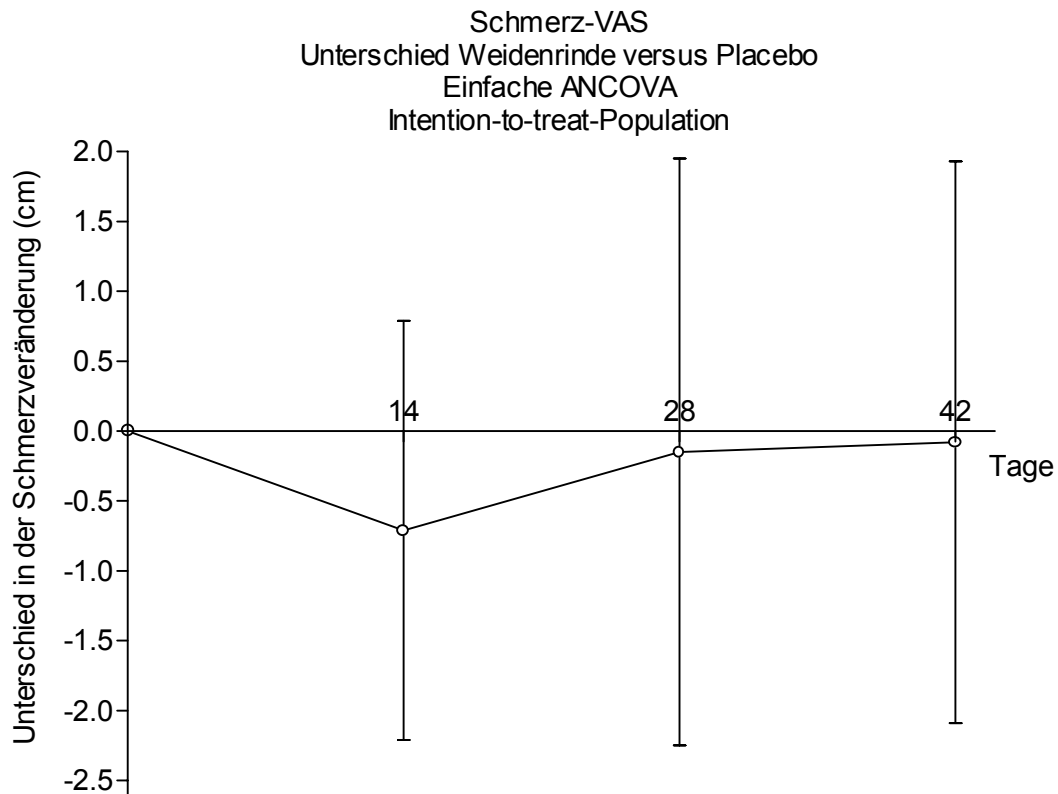


Abbildung 17: Unterschied zwischen Weidenrinde und Placebo in der Veränderung der Schmerz-VAS-Werte im Vergleich zu Visite 2 (Baseline, Tag 0). Dargestellt sind die mittels einfacher ANCOVA geschätzten Werte mit den 95% Konfidenzintervallen (Intention-to-treat-Population). Negative Werte bedeuten einen Unterschied zugunsten von Weidenrinde.

Ein alternatives Repeated Measurement ANCOVA-Modell, in das statt des Einzelzeitpunktes der Visite 5 alle drei Visiten nach der Randomisierung eingehen, bestätigt diese Ergebnisse (Zeitpunkt als within-subject Faktor, Baseline-Wert und Prüfzentrum als between-subject Faktoren). Hier ist der geschätzte Vorteil für die Weidenrindengruppe bei der Visite 5 -0,23 cm (95%-C.I.: -2,02 bis 1,55 cm; $p=0,793$) (Tabelle 23).

Tabelle 23: Ergebnisse der Repeated Measurement ANCOVA für die Unterschiede zwischen Weidenrinde und Placebo in der Veränderung der Schmerz-VAS-Werte im Vergleich zu Visite 2 (Baseline, Tag 0) (Intention-to-treat-Population). Negative Werte bedeuten einen Unterschied zugunsten von Weidenrinde.

Repeated Measurement ANCOVA (ITT)	Geschätzter Unterschied (cm)	untere Grenze 95%-C.I.	obere Grenze 95%-C.I.	p-Wert
Veränderung bei Visite 3 (Tag 14)	-0,53	-2,31	1,26	0,556
Veränderung bei Visite 4 (Tag 28)	-0,23	-2,02	1,55	0,793
Veränderung bei Visite 5 (Tag 42)	-0,23	-2,02	1,55	0,793

Abbildung 18 und Tabelle 37 (Tabellenanhang) zeigen die Veränderung des Hauptzielkriteriums von Tag 0 (Baseline) zu Tag 42 (Studienende) für die einzelnen Patienten. Betrachtet man, wie der Fallzahlabschätzung zugrunde gelegt, eine Veränderung von 1,5 cm als klinisch relevant, so erfuhren in der Weidenrindengruppe 4 Patienten eine klinisch relevante Verbesserung und ein Patient eine klinisch relevante Verschlechterung. In der Placebogruppe erfuhren 4 Patienten eine klinisch relevante Verbesserung und 4 Patienten eine klinisch relevante Verschlechterung. In der Weidenrindengruppe zeigten 2 Patienten extreme Veränderungen (≥ 5 cm), wobei sich ein Patient verbesserte und einer sich verschlechterte. In der Placebogruppe verbesserte sich ein Patient extrem (-6,4 cm). Es wird deutlich, wie bereits in Abschnitt 4.2.5.3 beschrieben, dass die Patienten der Weidenrindengruppe im Durchschnitt höhere Schmerz-Baseline-Werte aufwiesen als die Patienten der Placebogruppe. Es fallen keine Unterschiede zwischen den Prüfzentren auf.

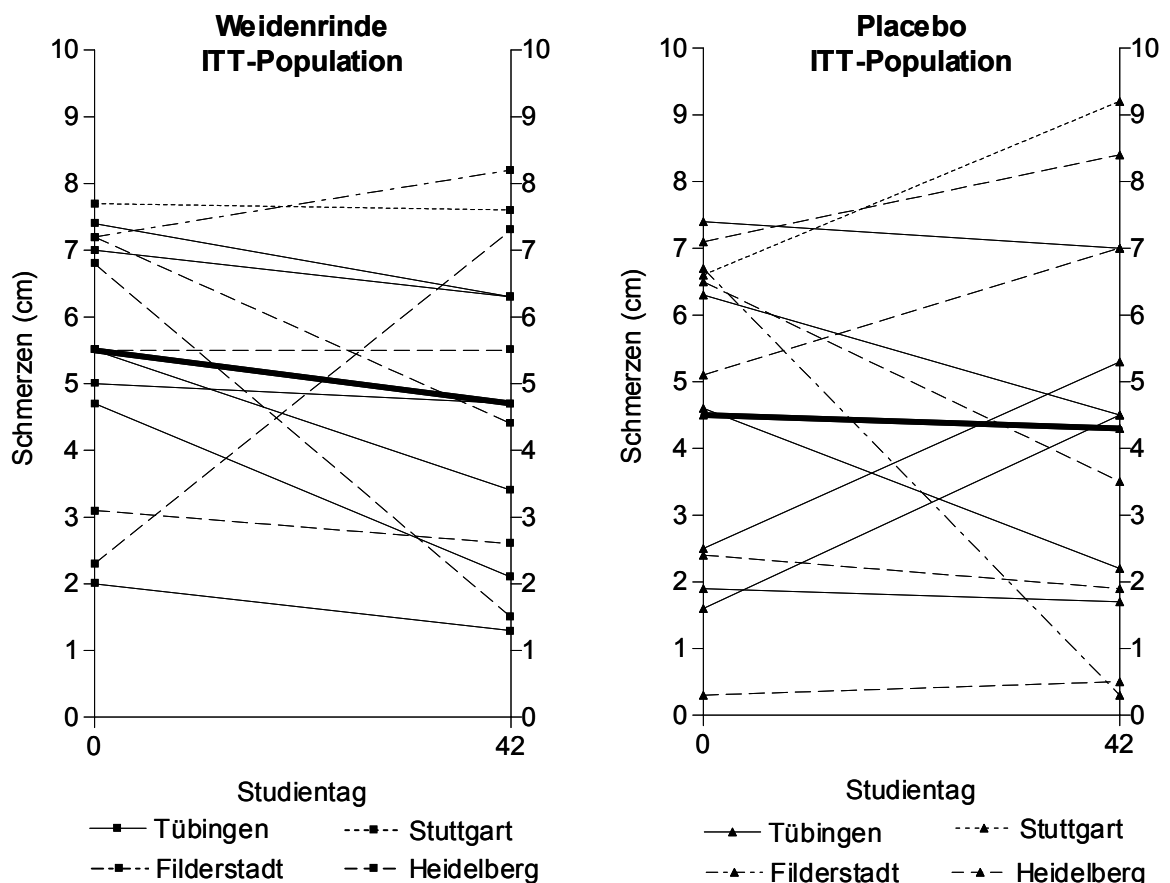


Abbildung 18: Veränderung der Schmerz-VAS-Werte von Tag 0 zu Tag 42 (Hauptmesszeitpunkt) für die einzelnen Patienten (dünne Linien) und den Mittelwert der jeweiligen Behandlungsgruppe (fette Linie).

Schmerzangaben im Tagebuch

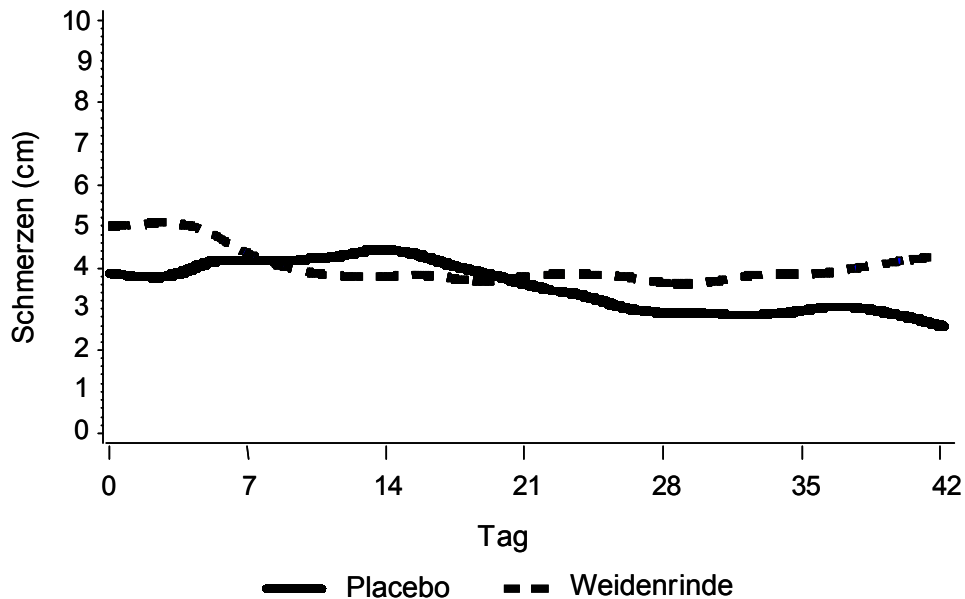


Abbildung 19: Geglätteter Verlauf der Schmerzangaben im Tagebuch für die Intention-to-treat-Population

Wie im Studienprotokoll festgelegt, wurden die Schmerz-VAS-Werte im Tagebuch nur zur Plausibilitätskontrolle ausgewertet. Sie stimmen recht gut mit den Schmerzangaben bei den Visiten überein. Deutlich erkennbar sind die höheren Baseline-Schmerzwerte der Weidenrindenpatienten am Tag 0 (5,2 versus 3,9 cm). Obwohl um den Tag 14 die Placebopatienten höhere absolute Schmerzwerte erreichten als die Weidenrindenpatienten, ist der Verlauf der Schmerzwerte im Tagebuch (Abbildung 19) vergleichbar mit dem Verlauf der bei den Visiten erhobenen Schmerzwerte (Hauptzielkriterium, vgl. Abbildung 16). Auch bei den Schmerzangaben im Tagebuch nahmen in beiden Behandlungsgruppen die Schmerzwerte über die sechswöchige Prüfphase leicht ab. Die größten Veränderungen traten wiederum von Visite 2 (Tag 0) zu Visite 3 (Tag 14) auf (Abnahme der Schmerzwerte in der Weidenrindengruppe, Zunahme in der Placebogruppe).

4.2.6.2 Per-protocol-Auswertung des Hauptzielparameters

Im Vergleich zur Intention-to-treat-Population ist in der Per-protocol-Population für beide Behandlungsgruppen ein deutlicherer Anstieg der Schmerzwerte während der Auswaschphase zu erkennen (+0,6 cm in der Weidenrindengruppe; +0,5 cm in der Placebogruppe; Abbildung 20 links und Tabelle 38 im Tabellenanhang). Diese Schmerzzunahme ist vermutlich auf das Absetzen von Analgetika und NSAR vor Studienbeginn (Visite 1, Tag -7) zurückzuführen. Zu Beginn der Prüfphase am Tag 0 wiesen beide Gruppen identische Schmerz-Mittelwerte auf (4,9 cm). Während der Prüfphase waren dann im Gegensatz zur ITT-Population die absoluten Schmerzwerte der Placebogruppe höher als die der Weidenrindengruppe. Der Verlauf der Schmerzveränderung im Vergleich zur Baseline ist in beiden Gruppen ähnlich wie in der ITT-Population (Abbildung 20 rechts und Tabelle 39 im Tabellenanhang). Der durchschnittliche Schmerzwert der Patienten der Weidenrindengruppe lag bei Studienende um 0,8 cm (16%) unter dem Baseline-Wert, bei den Patienten der Placebogruppe betrug die Verbesserung im Vergleich zur Baseline 0,5 cm (10%).

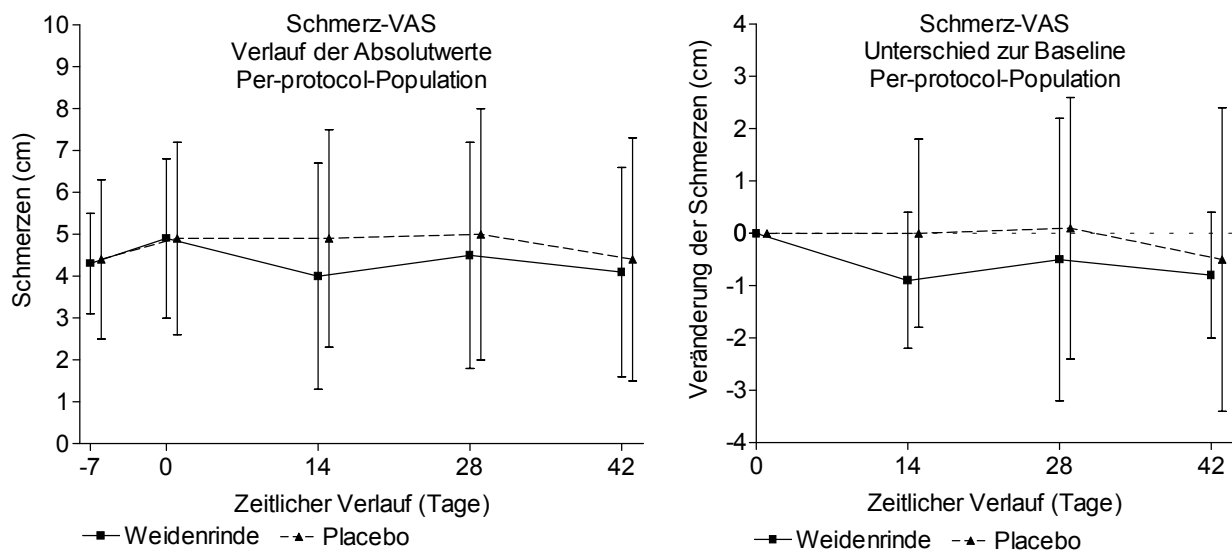


Abbildung 20: Verlauf der Schmerz-VAS-Werte für die Per-protocol-Population. Links: Absolutwerte \pm SD, rechts: Veränderung im Vergleich zur Baseline \pm SD

Auch in der Per-protocol-Population ergibt die statistische Auswertung der Unterschiede in der Schmerzverringerung zwischen den Behandlungsgruppen mit einer ANCOVA unter Einbeziehung der Kovariablen Prüfzentrum und Baseline-Schmerzwert bei keinem der Messzeitpunkte einen statistisch signifikanten Unterschied (Tabelle 24 und Abbildung 21). Ähnlich wie in der Intention-to-treat-Auswertung zeigt sich ein statistisch nicht signifikanter Unterschied zugunsten der Weidenrindengruppe bei der Visite 3 am Tag 14 (-0,92 cm), der aber bei der Visite 5 am Tag 42 (Hauptmesszeitpunkt) vollständig verschwunden ist (0,05 cm Unterschied zugunsten von Placebo).

Somit konnte auch in der Per-protocol-Auswertung die analgetische Wirksamkeit des Weidenrindenextraktes nicht gezeigt werden.

Tabelle 24: Ergebnisse der einfachen ANCOVA für die Unterschiede zwischen Weidenrinde und Placebo in der Veränderung der Schmerz-VAS-Werte im Vergleich zu Visite 2 (Baseline, Tag 0) (Per-protocol-Population). Negative Werte bedeuten einen Unterschied zugunsten von Weidenrinde, positive Werte einen Unterschied zugunsten von Placebo.

Einfache ANCOVA (PP)	Geschätzter Unterschied (cm)	untere Grenze 95%-C.I.	obere Grenze 95%-C.I.	p-Wert
Veränderung bei Visite 3 (Tag 14)	-0,92	-2,68	0,84	0,279
Veränderung bei Visite 4 (Tag 28)	0,03	-2,76	2,82	0,982
Veränderung bei Visite 5 (Tag 42)	0,05	-2,50	2,61	0,965

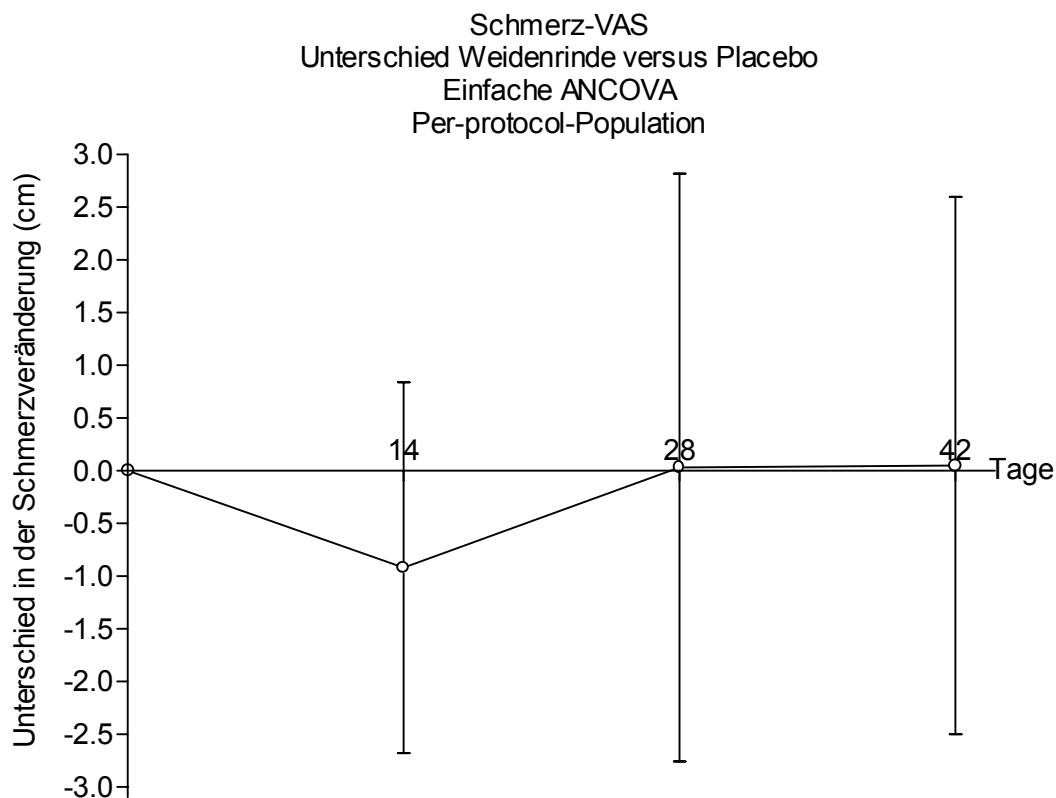


Abbildung 21: Unterschied zwischen Weidenrinde und Placebo in der Veränderung der Schmerz-VAS-Werte im Vergleich zu Visite 2 (Baseline, Tag 0). Dargestellt sind die mittels einfacher ANCOVA geschätzten Werte mit den 95% Konfidenzintervallen (Per-protocol-Population). Negative Werte bedeuten einen Unterschied zugunsten von Weidenrinde, positive Werte einen Unterschied zugunsten von Placebo.

Auch die Ergebnisse der Repeated Measurement ANCOVA geben keine Anhaltspunkte für eine Wirksamkeit des Weidenrindenextraktes auf den subjektiv empfundenen Schmerz (Tabelle 25). Der größte Unterschied wird wiederum bei der Visite 3 geschätzt (-0,65 cm), ist aber mit einem p-Wert von 0,552 deutlich von einer statistischen Signifikanz entfernt.

Tabelle 25: Ergebnisse der Repeated Measurement ANCOVA für die Unterschiede zwischen Weidenrinde und Placebo in der Veränderung der Schmerz-VAS-Werte im Vergleich zu Visite 2 (Baseline, Tag 0) (Per-protocol-Population). Negative Werte bedeuten einen Unterschied zugunsten von Weidenrinde.

Repeated Measurement ANCOVA (PP)	Geschätzter Unterschied (cm)	untere Grenze 95%-C.I.	obere Grenze 95%-C.I.	p-Wert
Veränderung zu Visite 3 (Tag 14)	-0,65	-2,85	1,55	0,552
Veränderung zu Visite 4 (Tag 28)	-0,28	-2,48	1,92	0,794
Veränderung zu Visite 5 (Tag 42)	-0,09	-2,29	2,11	0,933

Schmerzangaben im Tagebuch

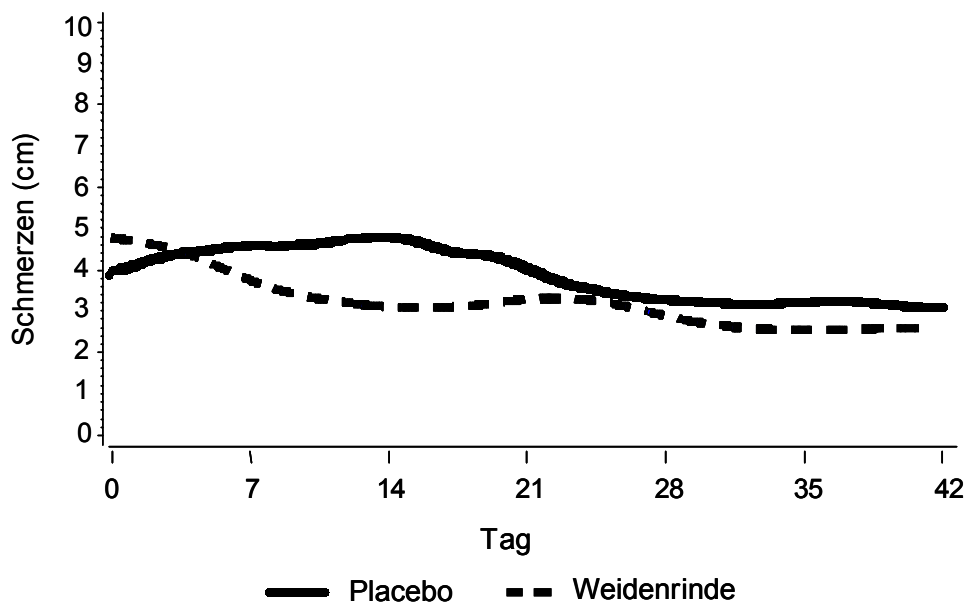


Abbildung 22: Geglätteter Verlauf der Schmerzangaben im Tagebuch für die Per-protocol-Population

Der Verlauf der Schmerzangaben im Tagebuch stimmt gut mit den bei den Visiten gemachten Angaben auf der Schmerz-VAS überein. Auch im Tagebuch unterschieden sich die Behandlungsgruppen in der Per-protocol-Population bei Baseline nur wenig, und ab Tag 4 lagen die Schmerzwerte der Weidenrindenpatienten unter denen der Placebopatienten. Insgesamt war eine leichte Abnahme der Schmerzen während der Prüfphase zu beobachten (Abbildung 22).

4.2.6.3 Intention-to-treat-Auswertung der Nebenzielparameter

Druckschmerzhaftes Gelenke

Abbildung 23 sowie Tabelle 40 und Tabelle 41 im Tabellenanhang zeigen den Verlauf der Anzahl druckschmerzhafter Gelenke. Während der Auswaschphase nahm die Anzahl druckschmerzhafter Gelenke in beiden Behandlungsgruppen um ca. 1 Gelenk zu. Wie bereits beschrieben (Abschnitt 4.2.5.3), wiesen die Weidenrindenpatienten bei Baseline (Tag 0, Visite 2) im Mittel 3 druckschmerzhaftere Gelenke mehr auf als die Placebopatienten (11 versus 7,9). Während die Anzahl druckschmerzhafter Gelenke in der Placebogruppe während der Prüfphase stetig abnahm, nahm sie in der Weidenrindengruppe zu Tag 14 deutlich ab, zu den Folgevisiten an Tag 28 und 42 aber wieder zu. Bei Studienende (Tag 42) war die Verbesserung im Vergleich zur Baseline in der Weidenrindengruppe geringer als in der Placebogruppe (-1,0 versus -2,1).

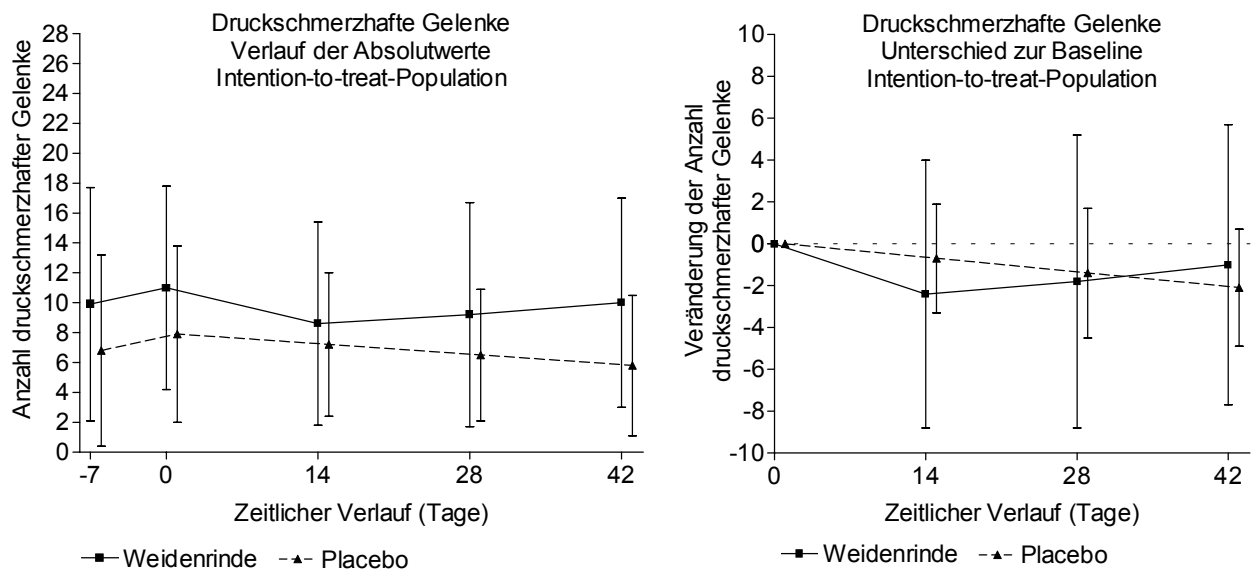


Abbildung 23: Verlauf der Anzahl druckschmerzhafter Gelenke für die ITT-Population. Links: Absolutwerte \pm SD, rechts: Veränderung im Vergleich zur Baseline \pm SD

Die statistische Auswertung dieses Unterschieds zwischen den Behandlungsgruppen in der Verringerung der Anzahl druckschmerzhafter Gelenke von Baseline zu Studienende ergibt einen tendenziellen Vorteil der Placebogruppe, der allerdings statistisch nicht auffällig ist ($p=0,254$, ANCOVA). Mit einem geschätzten Unterschied von mehr als 2 betroffenen Gelenken (2,30; 95%-C.I.: -1,78 bis 6,37) kann dieser Unterschied jedoch als klinisch relevant angesehen werden.

Geschwollene Gelenke

Abbildung 24 sowie Tabelle 42 und Tabelle 43 im Tabellenanhang zeigen den Verlauf der Anzahl geschwollener Gelenke. Bei Baseline (Tag 0) hatten die Weidenrindenpatienten im Mittelwert 2 geschwollene Gelenke mehr als die Placebo-patienten, die Mediane unterschieden sich hingegen nicht. Im Verlauf der Prüfphase veränderte sich die Anzahl der geschwollenen Gelenke in beiden Gruppen nur geringfügig.

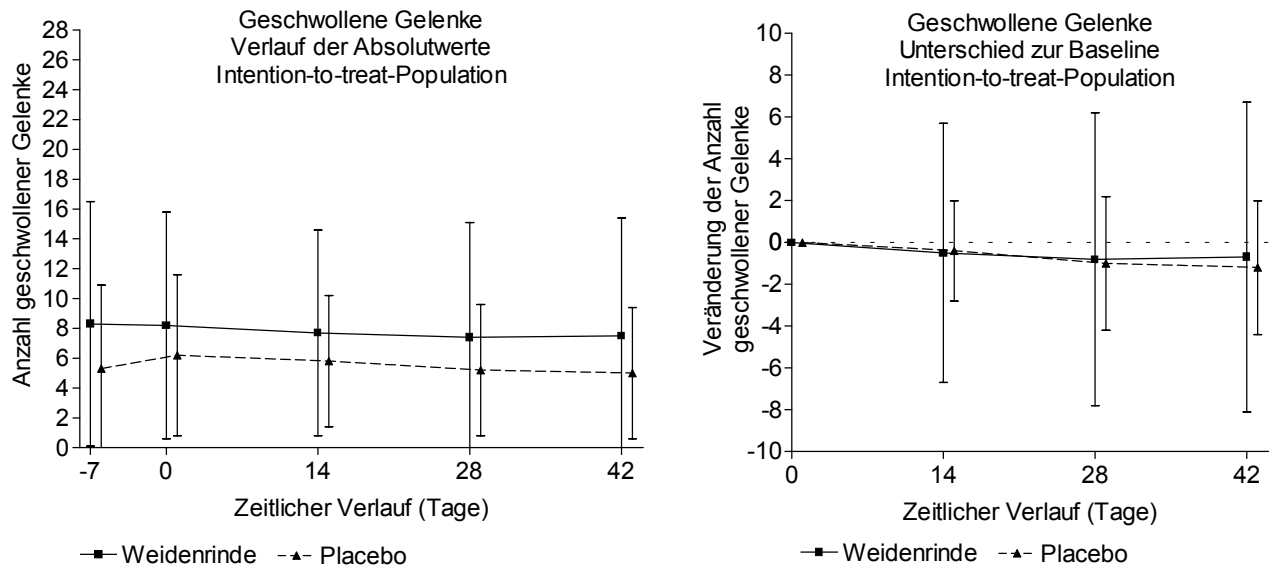


Abbildung 24: Verlauf der Anzahl geschwollener Gelenke für die ITT-Population. Links: Absolutwerte \pm SD, rechts: Veränderung im Vergleich zur Baseline \pm SD

Mit dem einfachen ANCOVA-Modell zeigt sich bei Studienende ein geringer Vorteil zugunsten von Placebo, der jedoch weder statistisch auffällig noch klinisch relevant ist (geschätzter Unterschied: 0,82; 95%-C.I.: -3,35 bis 5,00; $p=0,685$).

Health Assessment Questionnaire (HAQ)

Der Health Assessment Questionnaire erfasst die körperliche Funktionsfähigkeit der Patienten und beinhaltet Fragen zu Einschränkungen bei Alltagstätigkeiten (Zeitfenster 1 Woche). Mögliche Scorepunkte reichen von 0 bis 3, wobei höhere Werte größere Einschränkungen anzeigen. Wie bei anderen Zielparametern zeigt sich auch im HAQ die höhere Krankheitsbelastung der Weidenrindenpatienten. Während der Studie veränderte sich der Index in beiden Gruppen fast nicht. Absolutwerte und Veränderungen des HAQ Disability Index sind in Tabelle 44 und Tabelle 45 im Tabellenanhang dargestellt.

Der mittels ANCOVA geschätzte Unterschied in der Veränderung des Indexes von Baseline zu Studienende beträgt $-0,05$ Scorepunkte zugunsten von Weidenrinde (95%-C.I.: $-0,27$ bis $0,16$; $p=0,596$) und ist damit weder statistisch auffällig noch klinisch relevant.

Morgensteifigkeit

Abbildung 25 sowie Tabelle 46 und Tabelle 47 im Tabellenanhang zeigen den Verlauf der VAS-Werte zur Morgensteifigkeit. Die Morgensteifigkeit nahm in der Weidenrindengruppe etwas stärker ab als in der Placebogruppe. Dieser Unterschied ist möglicherweise auf die Tatsache zurückzuführen, dass die Morgensteifigkeit in der Weidenrindengruppe während der Auswaschphase auf der VAS von $4,2$ auf $5,0$ cm leicht zunahm, während sie in der Placebogruppe unverändert bei $4,5$ cm blieb. Es könnte sein, dass damit bei der Weidenrindengruppe ein zufällig hoher Wert als Baseline vorlag, der dann ein größeres Potenzial für Verbesserungen aufwies.

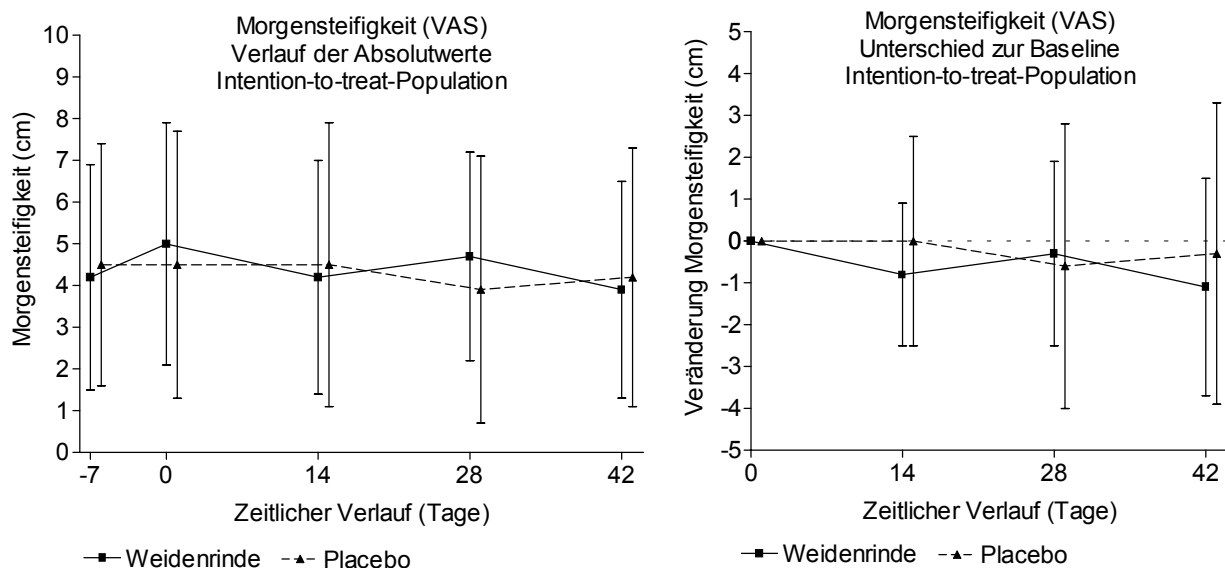


Abbildung 25: Verlauf der VAS-Werte zur Morgensteifigkeit für die ITT-Population. Links: Absolutwerte \pm SD, rechts: Veränderung im Vergleich zur Baseline \pm SD

Die Auswertung der Veränderung der Morgensteifigkeit von Baseline (Tag 0) zu Studienende (Tag 42) mittels ANCOVA ergibt einen geschätzten Unterschied von $-0,44$ cm zugunsten von Weidenrinde (95%-C.I.: $-2,71$ bis $1,83$). Mit einem p-Wert von $0,690$ ist dieser Unterschied statistisch nicht auffällig.

Gesamturteil Patient

An den Tagen 14, 28 und 42 bewerteten die Patienten den Therapieerfolg mit Hilfe einer 10 cm-VAS mit den Extremwerten „viel besser“ bei 0 cm und „viel schlechter“ bei 10 cm. Ein Kreuz bei 5 cm bedeutete keine Veränderung der Krankheitsaktivität. Bei der vom Patienten vorgenommenen Beurteilung des Therapieerfolgs schnitt die Weidenrindengruppe bei den Visiten 3 (Tag 14) und 4 (Tag 28) etwas besser ab als die Placebogruppe. Durchschnittlich gingen die Weidenrindenpatienten von einer leichten Verbesserung ihrer Krankheitsaktivität aus, während die Placebopatienten eine leichte Verschlechterung angaben. Bei Studienende (Visite 5, Tag 42) war dagegen kein Unterschied zwischen den Therapiegruppen auszumachen: mit 5,2 bzw. 5,3 cm lagen beide Mittelwerte nahe der 5,0 und damit der angenommenen Wirkungslosigkeit (Abbildung 26 und Tabelle 48 im Tabellenanhang).

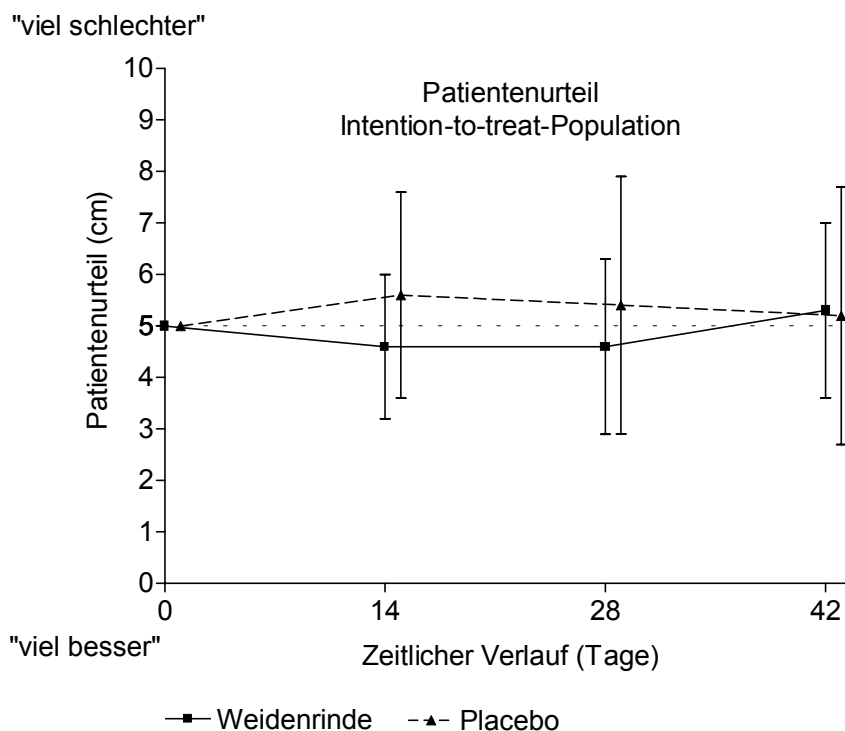


Abbildung 26: Verlauf der Patientenurteile über den Therapieerfolg (Beurteilung der Krankheitsaktivität im Vergleich zur Baseline) für die Intention-to-treat-Population. 10 cm-VAS: 0 cm = „viel besser“, 5 cm = „unverändert“, 10 cm = „viel schlechter“

Die statistische Auswertung mit einem ANCOVA-Modell (Prüfzentrum als Kovariable) ergibt einen marginalen geschätzten Unterschied von 0,13 cm zugunsten von Placebo (95%-C.I.: -1,72 bis 1,99 cm), der mit einem p-Wert von 0,889 statistisch nicht auffällig ist.

Gesamturteil Arzt

Im abschließenden Gesamturteil des Arztes schnitt die Weidenrinde um etwa 1 cm schlechter ab als Placebo (Tabelle 49 im Tabellenanhang). Bei den Weidenrindenpatienten gaben die Ärzte eine geringe Verschlechterung der Krankheitsaktivität an (5,8 cm), bei den Placebopatienten hingegen nahezu keine Veränderung (4,8 cm). Der mittels ANCOVA geschätzte Unterschied beträgt 0,95 cm zugunsten von Placebo (95%-C.I.: -0,70 bis 2,60; $p=0,260$).

Abbildung 27 vergleicht die abschließenden Gesamturteile von Arzt und Patient. Für die Weidenrindenpatienten konstatierten sowohl Ärzte als auch Patienten eine geringe Verschlechterung der Krankheitsaktivität, die Urteile für die Placebogruppe bewegen sich um die 5,0, den Wert für eine unveränderte Krankheitsaktivität.

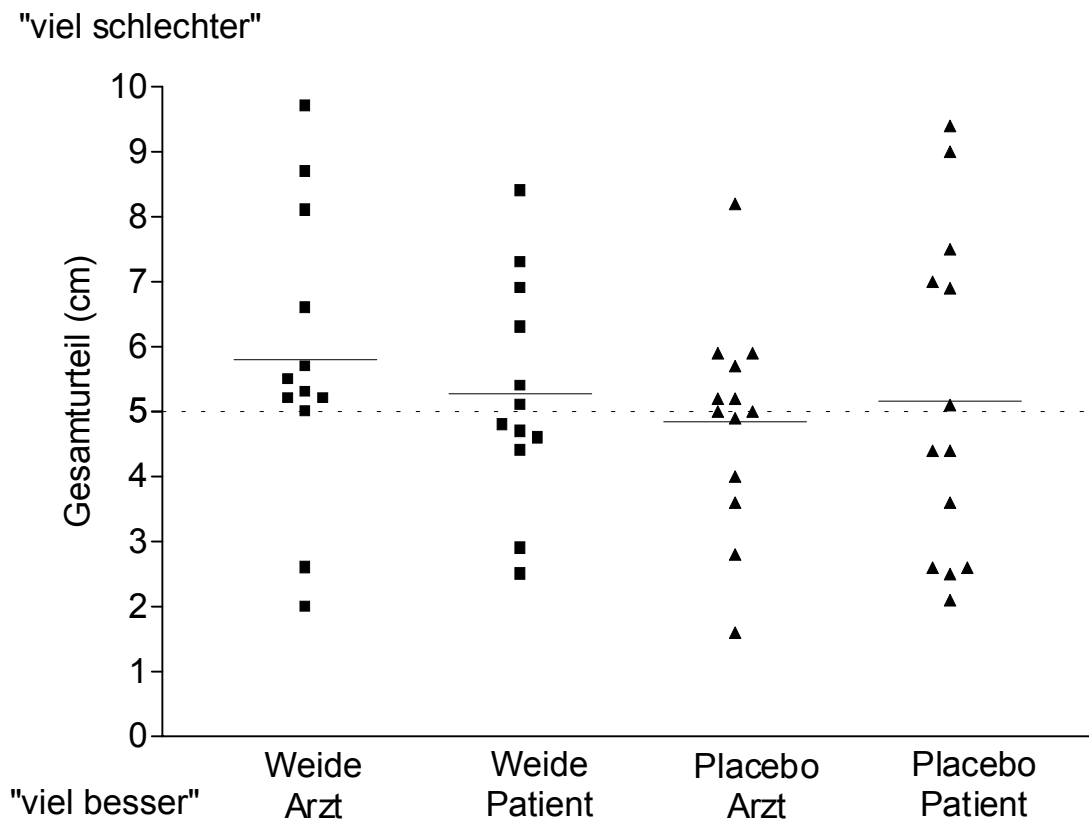


Abbildung 27: Vergleich der abschließenden Gesamturteile über den Therapieerfolg (Beurteilung der Krankheitsaktivität zu Studienende im Vergleich zur Baseline) von Arzt und Patient. Dargestellt sind Einzelwerte und Mittelwerte (Scatter-Plot). 10 cm-VAS: 0 cm = „viel besser“, 5 cm = „unverändert“, 10 cm = „viel schlechter“

Beurteilung der Lebensqualität (SF-36)

Die Beurteilung der gesundheitsbezogenen Lebensqualität wurde anhand des SF-36-Fragebogens vorgenommen, in dem die Patienten 36 Fragen zu ihrer subjektiven Gesundheitseinschätzung beantworteten. Diese Fragen können 8 Dimensionen (Subskalen) zugeordnet werden und in einem Körperlichen, einem Psychischen und einem Gesamt-Summenscore zusammengefasst werden. Die Scorepunkte reichen von 0 bis 100, wobei höhere Werte eine höhere Lebensqualität anzeigen.

In allen 8 Subskalen und 3 Summenskalen gaben die Weidenrindenpatienten bei Baseline niedrigere Werte, das heißt, eine niedrigere Lebensqualität, an als die Placebopatienten (Tabelle 50 im Tabellenanhang). Ein Gruppenvergleich der Baseline-Werte mit dem Kruskal-Wallis-Test ergab statistische auffällige Unterschiede ($p < 0,05$) für die Subskalen Schmerz, Körperliche Funktion, Körperliche Rollenfunktion und Soziale Funktion sowie für den Körperlichen Summenscore.

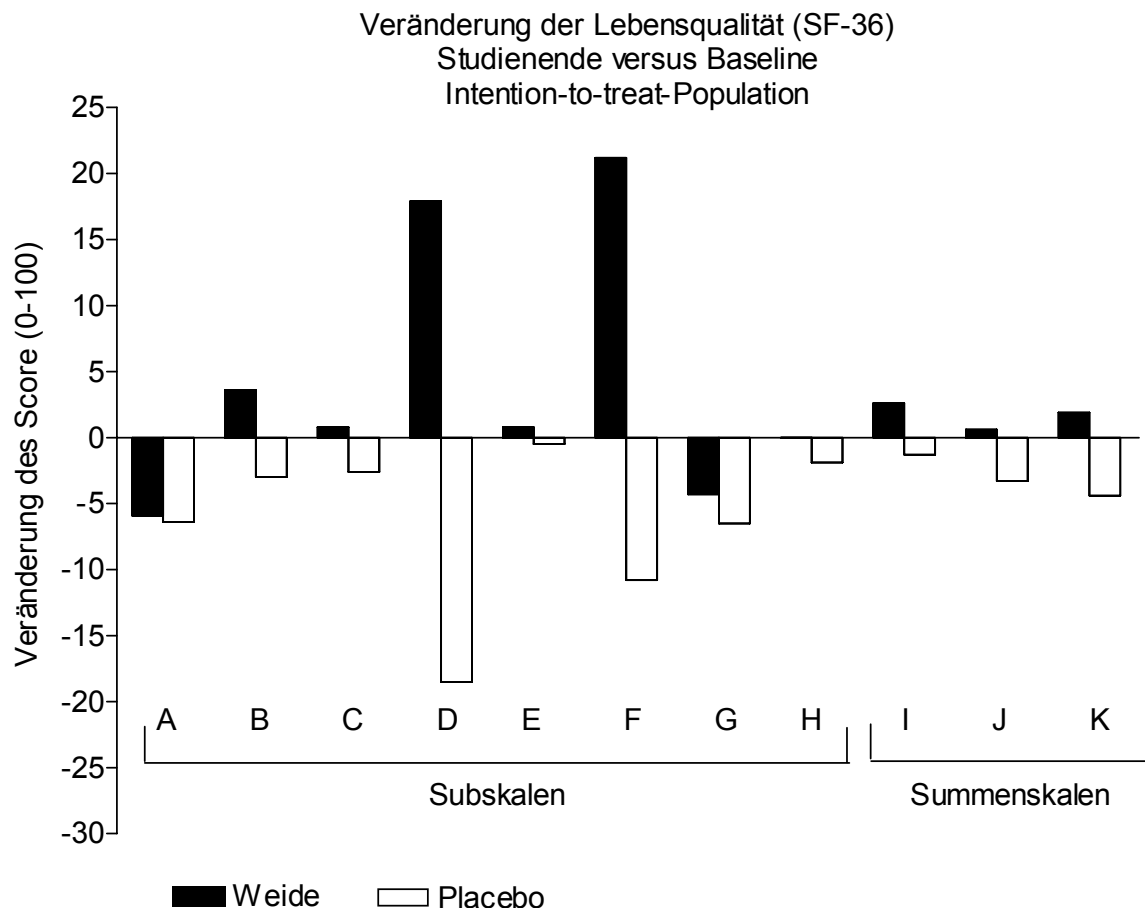


Abbildung 28: Veränderung der Lebensqualität (Studienende versus Baseline). Positive Werte bedeuten eine Verbesserung, negative Werte eine Verschlechterung. Dargestellt sind die Mittelwerte für die 8 Subskalen und die 3 Summenskalen (Intention-to-treat-Population). A = Gesundheitswahrnehmung, B = Schmerz, C = Vitalität, D = Emotionale Rollenfunktion, E = Körperliche Funktion, F = Körperliche Rollenfunktion, G = Psychisches Wohlbefinden, H = Soziale Funktion, I = Körperlicher Summenscore, J = Psychischer Summenscore, K = Gesamt-Summenscore

Abbildung 28 und Tabelle 51 (Tabellenanhang) zeigen, dass sich zu Studienende im Vergleich zum Baseline-Wert die Placebopatienten in allen Dimensionen verschlechterten. Wie im Hauptzielkriterium (Schmerz-VAS) war auch beim Schmerzscore des SF-36 (Balken B in Abbildung 28) die Schmerzverringering bei den Weidenrindenpatienten größer als bei den Placebopatienten, die beim Schmerzscore des SF-36 sogar eine leichte Schmerzzunahme zeigten.

Auffällig sind die deutlichen Unterschiede zwischen den Weidenrinden- und den Placebopatienten in den Subskalen Emotionale und Körperliche Rollenfunktion (Balken D und F in Abbildung 28). Diese Skalen drücken aus, in welchem Ausmaß emotionale Probleme bzw. der körperliche Gesundheitszustand die Arbeit oder andere tägliche Aktivitäten beeinträchtigen. Abbildung 29 zeigt für einzelne Patienten die Veränderung der Emotionalen und Körperlichen Rollenfunktion. Obwohl die Mehrzahl der Patienten sich in den beiden Dimensionen nicht verändert hat, gaben in der Dimension Emotionale Rollenfunktion 3 Weidenrindenpatienten Verbesserungen und 4 Placebopatienten Verschlechterungen an. Bei der Körperlichen Rollenfunktion verbesserten sich 5 Weidenrindenpatienten, während sich 3 Placebopatienten leicht verbesserten und 4 sich zum Teil deutlich verschlechterten.

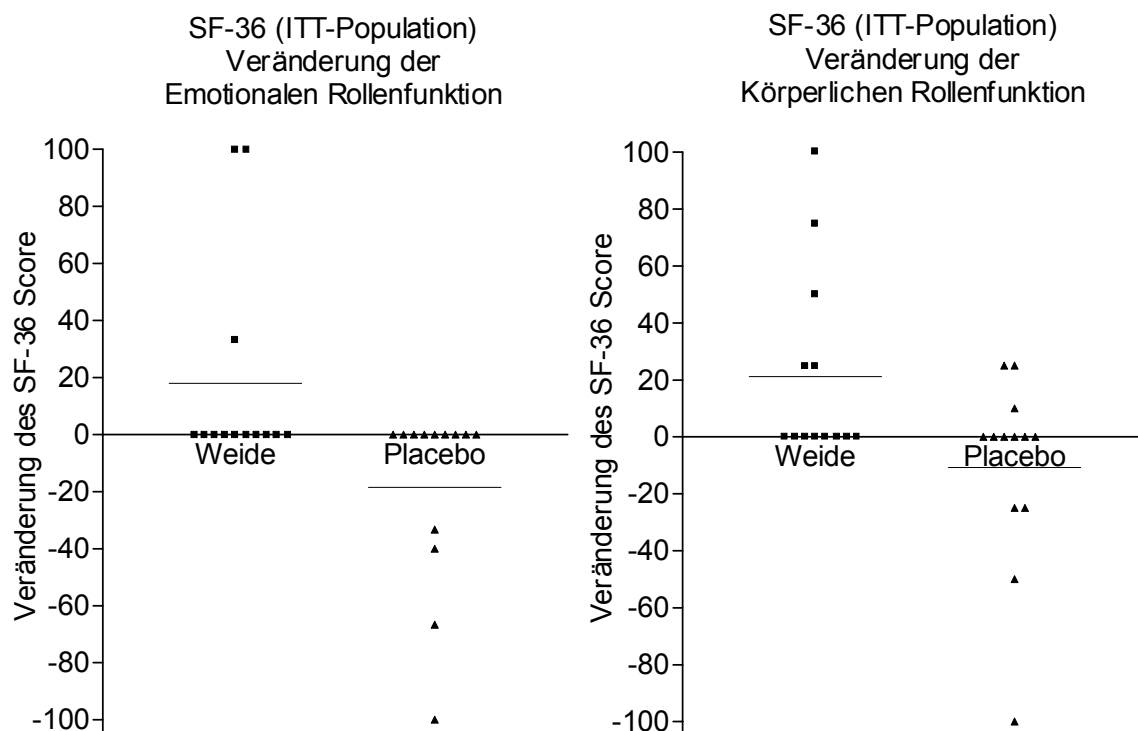


Abbildung 29: Veränderung der SF-36-Scores in den Dimensionen Emotionale Rollenfunktion (links) und Körperliche Rollenfunktion (rechts). Dargestellt sind die Werte für die einzelnen Patienten und die Mittelwerte der Gruppen (Scatter-Plot).

Wie Tabelle 26 zeigt, ergibt die statistische Auswertung für alle Sub- und Summenskalen Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen zugunsten der Weidenrinde (nur bei der Gesundheitswahrnehmung ist der geschätzte Unterschied 0). Das heißt, die beobachteten Unterschiede bleiben auch in der ANCOVA, in der ja die niedrigeren Baseline-Werte der Weidenrindenpatienten berücksichtigt werden, bestehen. Trotz der zum Teil großen geschätzten Unterschiede (Emotionale Rollenfunktion 25,8; Körperliche Rollenfunktion 29,6) erreichen die Unterschiede keine statistische Auffälligkeit (Tabelle 26).

Tabelle 26: Unterschied zwischen den Behandlungsgruppen in der Veränderung der SF-36 Scores (0-100) von Baseline (Visite 2, Tag 0) zu Studienende (Visite 5, Tag 42): einfache ANCOVA (Intention-to-treat-Population). Ein positiver Wert bedeutet einen Unterschied zugunsten von Weidenrinde.

SF-36 (ITT)	Geschätzter Unterschied	untere Grenze 95%-C.I.	obere Grenze 95%-C.I.	p-Wert
Gesundheitswahrnehmung	0,0	-12,3	12,3	0,998
Schmerz	3,4	-14,4	21,2	0,710
Vitalität	9,1	-3,4	21,6	0,152
Emotionale Rollenfunktion	25,8	-7,5	59,2	0,129
Körperliche Funktion	7,7	-11,2	26,6	0,426
Körperliche Rollenfunktion	29,6	-10,3	69,6	0,146
Psychisches Wohlbefinden	6,2	-9,1	21,5	0,427
Soziale Funktion	10,7	-2,9	24,2	0,124
Körperlicher Summenscore	3,0	-3,7	9,7	0,382
Psychischer Summenscore	5,4	-2,0	12,8	0,155

Akutphasereaktanten BSG und CRP

Die durchschnittliche Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit (BSG) bei Baseline (Visite 2, Tag 0) betrug 27,8 mm in der Weidenrindengruppe und 21,0 mm in der Placebogruppe. Somit zeigt sich auch in der BSG die höhere Krankheitsaktivität der Weidenrindenpatienten. Die Baseline-Werte für das C-reaktive Protein (CRP) unterschieden sich mit 1,9 mg/dl (Weidenrinde) und 2,0 mg/dl (Placebo) hingegen kaum (Tabelle 52 im Tabellenanhang).

Die Akutphasereaktanten BSG und CRP veränderten sich während der Auswaschphase gegenläufig, was darauf hindeutet, dass sich die entzündliche Aktivität nicht tatsächlich verändert hat. Während der Prüfphase sanken in der Weidenrindengruppe BSG und CRP leicht (um -1,3 mm bzw. -0,2 mg/dl), während sie in der Placebogruppe anstiegen (um 4,0 mm bzw. 0,5 mg/dl) (Tabelle 53 im Tabellenanhang). In der statistischen Auswertung (ANCOVA) ergibt sich für beide Akutphase-

reaktanten ein geschätzter Therapieunterschied zugunsten von Weidenrinde. Der geschätzte Unterschied bei der BSG von $-5,95$ mm (95%-C.I.: $-14,05$ bis $2,15$ mm) ist mit einem p-Wert von $0,141$ statistisch nicht auffällig. Für das CRP ergibt sich ein ebenfalls statistisch nicht auffälliger geschätzter Unterschied von $-0,74$ mg/dl (95%-C.I.: $-2,01$ bis $0,54$ mg/dl; $p=0,243$).

ACR-20-Responder

Nur 2 Patienten in der Weidenrindengruppe und 1 Patient in der Placebogruppe erfüllten die Kriterien des American College of Rheumatology für eine „Verbesserung“ und zählen als ACR-20-Responder. Aufgrund der kleinen absoluten Zahlen ist der Unterschied im Cochrane-Mantel-Haenszel-Test (Prüfzentrum als Stratifizierungsvariable) statistisch nicht auffällig ($p=0,549$).

4.2.6.4 Per-protocol-Auswertung der Nebenzielparameter

Zur Per-protocol-Auswertung der Nebenzielparameter sei auf die zusammenfassende Darstellung in Tabelle 28 auf Seite 93 verwiesen.

Wie bei den Schmerz-VAS-Werten war auch bei der Anzahl druckschmerzhafter und geschwollener Gelenke der Baseline-Unterschied zwischen den Behandlungsgruppen in der Per-protocol-Population deutlich geringer als in der Intention-to-treat-Population. In der Per-protocol-Population wiesen die Weidenrindenpatienten bei Baseline nur noch ein druckschmerzhaftes Gelenk mehr auf bei vergleichbarer Anzahl geschwollener Gelenke. Die Baseline-Werte für die Morgensteifigkeit lagen in der Weidenrindengruppe sogar unter denen der Placebogruppe. Dies mag daran liegen, dass die bei der Weidenrindengruppe in der ITT-Population aufgetretene Zunahme der Morgensteifigkeit während der Auswaschphase in der PP-Population nicht zu beobachten war. Im HAQ-Score, dem Körperlichen Summenscore des SF-36 und der BSG drückte sich auch in der Per-protocol-Population eine höhere Krankheitsbelastung der Weidenrindenpatienten aus.

In der Per-protocol-Auswertung zeigt sich für keines der untersuchten Nebenzielkriterien ein statistisch auffälliger Unterschied zwischen Weidenrindenextrakt und Placebo. Die geschätzten Effekte sind mit denen der Intention-to-treat-Auswertung vergleichbar. Lediglich beim Health Assessment Questionnaire und beim C-reaktiven Protein wird der in der ITT-Auswertung beobachtete leichte Vorteil zugunsten von Weidenrinde in der PP-Auswertung nicht bestätigt. Die beiden ACR-20-Responder in der Weidenrindengruppe der ITT-Population wurden von der PP-Population ausgeschlossen, so dass letztlich in der PP-Population nur 1 Placebopatient die Kriterien für eine ACR-20-Response erfüllt.

4.2.6.5 Zusammenfassung der Zielparameter

Tabelle 27 und Tabelle 28 fassen die Ergebnisse der Intention-to-treat-Auswertung und der Per-protocol-Auswertung zusammen.

Intention-to-treat-Auswertung

Tabelle 27: Ergebnisse der Intention-to-treat-Auswertung. Beim SF-36 werden Gruppenunterschiede (Weide versus Placebo) zugunsten von Weidenrinde durch positive Werte ausgedrückt, bei allen anderen Zielkriterien durch negative Werte.

Zielparameter (ITT) Messbereich (Optimum)	Therapie	Mittelwerte der Wirksamkeitsparameter					Visite 5 - Visite 2 Differenz der Mittelwerte innerhalb der Gruppen	Visite 5 - Visite 2 Geschätzter Unterschied Weide vs Placebo (95%-C.I.)	p-Wert
		Visite 1 Tag (-X) X=4-10	Visite 2 Tag 0 Baseline	Visite 3 Tag 14	Visite 4 Tag 28	Visite 5 Tag 42			
Hauptzielparameter									
Schmerzen	W	5,1 ¹⁾	5,5	4,9	5,2	4,7	-0,8	-0,08 (-2,09; 1,93)	0,934*
0 cm -10 cm (0 cm)	P	4,4 ¹⁾	4,5	4,7	4,8	4,3	-0,2		
Nebenzielparameter									
Joint Count									
Druckschmerzhaft	W	9,9 ¹⁾	11,0	8,6	9,2	10,0	-1,0	2,30 (-1,78; 6,37)	0,254*
0-28 (0)	P	6,8 ¹⁾	7,9	7,2	6,5	5,8	-2,1		
Geschwollen	W	8,3 ¹⁾	8,2	7,7	7,4	7,5	-0,7	0,82 (-3,35; 5,00)	0,685*
0-28 (0)	P	5,3 ¹⁾	6,2	5,8	5,2	5,0	-1,2		
HAQ	W		1,2	1,2	1,2	1,2	0,0	-0,05 (-0,27; 0,16)	0,596*
0-3 (0)	P		0,9 ¹⁾	0,9	0,8	0,9	0,1		
Morgensteifigkeit	W	4,2 ¹⁾	5,0	4,2	4,7	3,9	-1,1	-0,44 (-2,71; 1,83)	0,690*
0 cm - 10 cm (0 cm)	P	4,5 ¹⁾	4,5	4,5	3,9	4,2	-0,3		
Gesamturteil Patient	W		(5,0)	4,6 ¹⁾	4,6 ¹⁾	5,3 ¹⁾	0,3	0,13 (-1,72; 1,99)	0,889 [†]
0 cm = viel besser 10 cm = viel schlechter	P		(5,0)	5,6	5,4	5,2	0,2		
Gesamturteil Arzt	W		(5,0)			5,8 ¹⁾	0,8	0,95 (-0,70; 2,60)	0,260 [†]
0 cm = viel besser 10 cm = viel schlechter	P		(5,0)			4,8	-0,2		
SF-36									
Körperlicher Summen-	W		30,8 ¹⁾			33,1	2,6	3,0 (-3,7; 9,7)	0,382*
score 0-100 (100)	P		41,5 ²⁾			39,7	-1,3		
Psychischer Summen-	W		52,2 ¹⁾			51,5	0,6	5,4 (-2,0; 12,8)	0,155*
score 0-100 (100)	P		54,4 ²⁾			50,0	-3,3		
Akutphasereaktanten									
BSG in mm	W	25,6 ¹⁾	27,8			26,5	-1,3	-5,95 (-14,05; 2,15)	0,141*
	P	21,5 ²⁾	21,0 ¹⁾			25,8	4,0		
CRP in mg/dl	W	2,4 ¹⁾	1,9			1,7	-0,2	-0,74 (-2,01; 0,54)	0,243*
	P	1,8 ²⁾	2,0			2,5	0,5		
ACR-20-Responder	W					2			0,549 [‡]
	P					1			

W: Weidenrinde; P: Placebo

¹⁾ Bei einem Patienten fehlt der Messwert bzw. kann der HAQ Disability Index oder der SF-36-Summenscore nicht berechnet werden.

²⁾ Bei 2 Patienten fehlt der Messwert bzw. kann der SF-36-Summenscore nicht berechnet werden.

* einfache ANCOVA, Baseline-Wert und Prüfzentrum als Kovariablen

[†] einfache ANCOVA, Prüfzentrum als Kovariable

[‡] Cochran-Mantel-Haenszel-Test, Prüfzentrum als Stratifizierungsvariable

Per-protocol-Auswertung

Tabelle 28: Ergebnisse der Per-protocol-Auswertung. Beim SF-36 werden Gruppenunterschiede (Weide versus Placebo) zugunsten von Weidenrinde durch positive Werte ausgedrückt, bei allen anderen Zielkriterien durch negative Werte.

Zielparameter (PP) Messbereich (Optimum)	Therapie	Mittelwerte der Wirksamkeitsparameter					Visite 5 - Visite 2 Differenz der Mittelwerte innerhalb der Gruppen	Visite 5 - Visite 2 Geschätzter Unterschied Weide vs Placebo (95%-C.I.)	p-Wert
		Visite 1 Tag (-X) X=4-10	Visite 2 Tag 0 Baseline	Visite 3 Tag 14	Visite 4 Tag 28	Visite 5 Tag 42			
Hauptzielparameter									
Schmerzen	W	4,3	4,9	4,0	4,5	4,1	-0,8	0,05 (-2,50; 2,61)	0,965*
0 cm -10 cm (0 cm)	P	4,4	4,9	4,9	5,0	4,4	-0,5		
Nebenzielparameter									
Joint Count									
Druckschmerzhaft	W	5,4	7,7	7,9	7,1	7,7	0,0	1,58 (-0,62; 3,79)	0,144*
0-28 (0)	P	5,7	6,9	6,5	6,2	5,4	-1,5		
Geschwollen	W	6,1	4,6	6,4	6,6	6,0	1,4	1,08 (-2,31; 4,46)	0,501*
0-28 (0)	P	4,0	4,7	4,7	4,7	4,5	-0,2		
HAQ	W		1,1	1,2	1,2	1,2	0,1	0,07 (-0,12; 0,26)	0,443*
0-3 (0)	P		0,9 ¹⁾	0,9	0,8	0,9	0,0		
Morgensteifigkeit	W	4,2	3,8	3,3	3,5	3,3	-0,5	-0,12 (-3,10; 2,85)	0,931*
0 cm - 10 cm (0 cm)	P	4,8	5,1	4,7	4,0	4,3	-0,8		
Gesamturteil Patient									
0 cm = viel besser	W		(5,0)	4,5	4,8	5,2	0,2	0,30 (-2,17; 2,78)	0,810 [†]
10 cm = viel schlechter	P		(5,0)	5,5	5,2	5,0	0,0		
Gesamturteil Arzt									
0 cm = viel besser	W		(5,0)			6,4	1,4	1,74 (-0,18; 3,66)	0,076 [†]
10 cm = viel schlechter	P		(5,0)			4,7	-0,3		
SF-36									
Körperlicher Summen-	W		33,1			36,3	3,2	4,2 (-4,0; 12,4)	0,314*
score 0-100 (100)	P		41,6 ²⁾			39,3	-1,5		
Psychischer Summen-	W		56,0			53,2	-2,8	2,7 (-5,5; 11,0)	0,517*
score 0-100 (100)	P		54,8 ²⁾			50,4	-3,0		
Akutphasereaktanten									
BSG in mm	W	26,1	28,7			27,3	-1,4	-5,74 (-18,87; 7,39)	0,357*
	P	21,5	20,8 ¹⁾			26,0	4,2		
CRP in mg/dl	W	2,0	1,8			2,3	0,5	0,24 (-1,29; 1,78)	0,738*
	P	1,8	1,8			2,1	0,3		
ACR-20-Responder	W					0			0,425 [‡]
	P					1			

W: Weidenrinde; P: Placebo

¹⁾ Bei einem Patienten fehlt der Messwert bzw. kann der HAQ Disability Index nicht berechnet werden

²⁾ Bei 2 Patienten kann der SF-36-Summenscore nicht berechnet werden.

* einfache ANCOVA, Baseline-Wert und Prüfzentrum als Kovariablen

† einfache ANCOVA, Prüfzentrum als Kovariable

‡ Chi-Quadrat-Test

4.2.6.6 Schlussfolgerungen zur Wirksamkeit

In dieser Studie gelang es nicht, die Wirksamkeit des Weidenrindenextraktes anhand des gewählten Hauptzielparameters statistisch signifikant zu belegen. Neben der fehlenden statistischen Signifikanz zeigt auch die Größe der geschätzten Effekte, dass eine klinisch relevante Schmerzverringerung durch den Weidenrindenextrakt unwahrscheinlich ist. Im Studienprotokoll wurde ein Unterschied in der Schmerzveränderung von 1,5 cm als klinisch relevant betrachtet. Eine Power-Analyse der Studienergebnisse ergibt, dass die Wahrscheinlichkeit, dass der wahre Unterschied zwischen Weidenrinde und Placebo 1,5 cm oder mehr beträgt, bei 7% liegt (ANCOVA, Prüfzentrum und Baseline-Schmerzwert als Kovariablen). Die Wahrscheinlichkeit, dass der wahre Effekt mindestens 1 cm ist, beträgt 17%, ein Effekt von 0,5 cm oder mehr ist mit 33-prozentiger Wahrscheinlichkeit anzunehmen. Die statistische Aussagekraft der Studie ist daher trotz der geringen Fallzahl recht groß, und es ist unwahrscheinlich, dass ein klinisch relevanter Effekt des Weidenrindenextraktes übersehen wurde.

Das Ergebnis der ANCOVA-Analyse des Hauptzielparameters scheint den in der Studienpopulation gemessenen Daten zunächst zu widersprechen. Dort wurden durchaus Unterschiede zwischen den Therapiegruppen sichtbar (eine um 0,6 cm größere Schmerzverringerung unter Weidenrinde im Vergleich zu Placebo in der ITT-Population). Diese scheinbare Diskrepanz ist vermutlich durch die unterschiedlichen Ausgangsschmerzwerte der beiden Therapiegruppen zu erklären. Da die Baseline-Werte der Weidenrindengruppe durchschnittlich höher lagen als die der Placebogruppe, ist ein etwas größerer Abfall in dieser Gruppe zu erwarten. Dieses wird in der ANCOVA-Analyse durch Adjustierung bezüglich des Baseline-Wertes berücksichtigt. Bei gleichen Ausgangsschmerzwerten ist der Therapievorteil der Weidenrinde daher vernachlässigbar.

Ebenso scheint es, als ob die Unterschiede im Hauptzielparameter zwischen Weidenrinde und Placebo bei der Visite 3 größer waren als bei den Visiten 4 oder 5. Die verschiedenen statistischen Modelle zeigen zwar bei der Visite 3 einen geschätzten Therapievorteil von 0,71 cm (einfache ANCOVA) bzw. 0,53 cm (Repeated Measurement ANCOVA) an, doch sind auch diese Werte weit von einer statistischen Signifikanz entfernt. Es ist daher davon auszugehen, dass die Unterschiede von Visite zu Visite eher zufällig sind als dass sie eine systematische Tendenz aufzeigen. Hierfür spricht auch, dass die Größe der Effekte je nach statistischem Modell relativ stark variiert.

Auch die Auswertung der Nebenzielparameter ergibt keine klinisch relevante oder statistisch auffällige Überlegenheit des Weidenrindenextraktes gegenüber Placebo. Zwar sind bei machen Nebenzielparametern (HAQ, Morgensteifigkeit, SF-36, Akutphasereaktanten BSG und CRP) Tendenzen zugunsten der Weidenrinde erkennbar, jedoch zeichnet sich bei anderen Zielparametern (druckschmerzhaftes Gelenke, geschwollene Gelenke, Gesamturteil Patient, Gesamturteil Arzt) eine

Tendenz zugunsten von Placebo ab. Es ist daher anzunehmen, dass es sich um zufallsbedingte Schwankungen handelt.

Die Ergebnisse der Per-protocol-Auswertung bestätigen im Wesentlichen die Ergebnisse der Intention-to-treat-Auswertung. Auch in dieser Population, in der ein bestehender Therapieeffekt leichter nachweisbar sein müsste, sind keine relevanten oder statistisch auffälligen Gruppenunterschiede zu verzeichnen. Allerdings beruht die Per-protocol-Auswertung auf relativ geringen Fallzahlen, so dass die statistische Aussagekraft eingeschränkt ist.

4.2.7 Auswertungen zur Sicherheit

4.2.7.1 Patientenurteil zur Verträglichkeit

Bei der Abschlussvisite beurteilten die Patienten die Verträglichkeit des Prüfmedikaments anhand einer 10 cm-VAS mit den Extremwerten 0 cm: „sehr gut“ bis 10 cm: „sehr schlecht“. Nach dem Urteil der Patienten waren beide Therapien gut verträglich. Die Patienten gaben eine durchschnittliche Verträglichkeit von 1,4 cm (Weidenrinde) bzw. 0,9 cm (Placebo) an. Der Unterschied zugunsten von Placebo war statistisch nicht auffällig ($p=0,414$; ANCOVA, Prüfzentrum als Kovariable).

4.2.7.2 Labordaten

Sicherheitslaborparameter wurden bei den Visiten 1 und 5 erhoben. Eine statistische Auswertung der Gruppenunterschiede für die Veränderung der Laborwerte von Visite 1 zu Visite 5 ergibt einen statistisch auffälligen p-Wert von 0,029 (Kruskal-Wallis-Test) für die Lymphozyten. Während der Anteil der Lymphozyten in der Weidenrindengruppe von durchschnittlich 26,7% auf 21,0% fiel, stieg er in der Placebogruppe von 18,7% auf 19,3%. Diese Unterschiede sind vermutlich eher auf Ungleichheiten zwischen den Therapiegruppen als auf tatsächliche systematische Lymphozytenabfälle unter Weidenrinde zurückzuführen. Hierfür sprechen zwei Tatsachen: Zum einen lag der Mittelwert der Weidenrindengruppe auch noch bei Visite 5 über dem der Placebogruppe. Zum anderen befanden sich bei Visite 1 in der Placebogruppe zwei Patienten mit Lymphozytenwerten unterhalb des Normbereichs (6,1% bzw. 8,5%; Normbereich 10% bis 50%), während zwei Patienten mit sehr hohen Werten in der Weidenrindengruppe auftraten (49,1% bzw. 62,9%). Aus statistischer Sicht ist es daher wahrscheinlich, dass Nivellierungen auftraten.

Zu relevanten Erhöhungen einzelner Laborparameter kam es nur bei einzelnen Patienten (Tabelle 29). Hierbei wird eine Erhöhung als relevant bezeichnet, wenn der Wert bei Visite 1 innerhalb des Normbereichs und bei Visite 5 mehr als 30% oberhalb des oberen Normwerts liegt. In der Weidenrindengruppe hatte ein Patient (Random-

Nr. 549) bei der Abschlussvisite einen leicht erhöhten Gamma-GT-Wert. Ein Zusammenhang mit der Weidenrindeneinnahme ist jedoch unwahrscheinlich, da der Patient bereits vor der Studienteilnahme bei regelmäßigen Blutuntersuchungen erhöhte Gamma-GT-Werte aufwies. Ein weiterer Patient der Weidenrindengruppe (Random-Nr. 553) zeigte einen deutlichen Anstieg der Serum-GOT und der Serum-GPT von Visite 1 zu Visite 5. Bei einer Blutuntersuchung zwei Wochen nach Studienende und bei weiteren regelmäßigen Kontrollen lagen die Serum-GOT- und Serum-GPT-Werte wieder im Normbereich, obwohl der Patient auf ärztliche Verordnung weiterhin ein mit dem Prüfmedikament vergleichbares Weidenrindenpräparat einnahm. Somit ist auch hier nicht von einem Zusammenhang mit der Einnahme von Weidenrindenextrakt auszugehen. In der Placebogruppe traten bei 3 Patienten relevante Laborwertveränderungen auf, wobei bei 2 Patienten die Monozyten und bei einem Patienten die Serum-GOT erhöht waren (Tabelle 29).

Tabelle 29: Laborwertveränderungen von innerhalb des Normbereichs bei Visite 1 auf über 30% oberhalb des oberen Normwerts bei Visite 5. Die Normbereiche sind zentrumsspezifisch und geschlechtsspezifisch.

Random-Nr.	Therapie	Prüfzentrum	Parameter	Normbereich	Visite 1	Visite 5	Veränderung
549	W	Heidelberg	Gamma-GT (U/l)	<28	23	40	17
553	W	Heidelberg	Serum-GOT (U/l)	<15	6	47	41
553	W	Heidelberg	Serum-GPT (U/l)	<19	5	52	47
402	P	Tübingen	Monozyten (%)	2-8	4,7	10,5	5,8
403	P	Tübingen	Monozyten (%)	2-8	3,2	10,7	7,5
555	P	Heidelberg	Serum-GOT (U/l)	<15	15	38	23

W: Weidenrinde, P: Placebo

4.2.7.3 Unerwünschte Ereignisse

Unerwünschte Ereignisse während der Auswaschphase

Tabelle 30 listet alle Unerwünschten Ereignisse (UEs) auf, die bereits während der Auswaschphase auftraten und daher nicht mit der Studienmedikation in Zusammenhang stehen können. Insgesamt traten während der Auswaschphase 4 Unerwünschte Ereignisse auf, die die Organsysteme „Zentrales und peripheres Nervensystem“ (3 UEs) und „Verdauungstrakt“ (1 UE) betrafen.

Tabelle 30: Unerwünschte Ereignisse während der Auswaschphase (ITT-Population)

Random-Nr.	Therapie	Prüfzentrum	Unerwünschtes Ereignis	schwerwiegend	Beginn Tag	Ende Tag	Intensität	Kausalität	Maßnahmen	Verlauf
Zentrales und peripheres Nervensystem										
403	P	Tübingen	Müdigkeit	nein	-3	-3	1	1	1	1
409	W	Tübingen	Schwindelgefühl	nein	0	0	1	1	1	1
410	P	Tübingen	Kopfschmerzen	nein	-6	-6	1	1	1	1
Verdauungstrakt										
403	P	Tübingen	Sodbrennen	nein	-3	4	1	2	6	1

W: Weidenrinde; P: Placebo

Beginn und Ende beziehen sich auf den Tag der Randomisierung (Tag 0).

Intensität: 1=leicht, 2=mittel, 3=schwer

Kausalität: 1=unwahrscheinlich, 2=möglich, 3=wahrscheinlich, 4=sicher, 5=nicht bewertbar

Maßnahmen: 1=keine, 2=Dosisreduktion der Prüfmedikation, 3=Absetzen und Neubeginn der Prüfmedikation, 4=endgültiges Absetzen der Prüfmedikation, 5=Änderung oder Absetzen begleitender Medikation, 6=zusätzliche Medikation, 7=Krankenhausaufenthalt notwendig oder verlängert, 8=andere

Verlauf: 1=reversibel, 2=gebessert, 3=unverändert, 4=verschlechtert, 5=verstorben, 6=unvollständige Nachuntersuchung

Unerwünschte Ereignisse während der Prüfphase

Tabelle 31 zeigt eine Zusammenfassung der während der Prüfphase aufgetretenen Unerwünschten Ereignisse, geordnet nach den Organsystemen der WHO Adverse Reaction Terminology. Eine Auflistung der einzelnen Unerwünschten Ereignisse findet sich in Tabelle 32.

Tabelle 31: Unerwünschte Ereignisse während der Prüfphase: zahlenmäßige Erfassung in beiden Behandlungsgruppen (ITT-Population), geordnet nach Organsystemen

Organsystem (WHO-ART)	Anzahl Unerwünschter Ereignisse (UEs)	
	Weidenrinde	Placebo
Respirationstrakt	2	3
Zentrales und peripheres Nervensystem	2	1
Haut und Hautanhangsgebilde	1	1
Verdauungstrakt	0	2
Muskel und Skelettsystem	1	0
Bindegewebsveränderungen	1	0
Gesamtzahl der UEs	7	7
Gesamtzahl der Patienten mit UEs	7	6*

* Ein Patient hatte zwei Unerwünschte Ereignisse

Tabelle 32: Unerwünschte Ereignisse während der Prüfphase, geordnet nach Organsystemen

Random-Nr.	Therapie	Prüfzentrum	Unerwünschtes Ereignis	schwerwiegend	Beginn Tag	Ende Tag	Intensität	Kausalität	Maßnahmen	Verlauf
Respirationstrakt										
408	W	Tübingen	Erkältung (Husten, Schnupfen)	nein	8		2	1	6	2
448	W	Stuttgart	Sinusitis	nein	18		2	1	6	2
403	P	Tübingen	Erkältung mit Husten und Schnupfen, respiratorischer Infekt	nein	6	44	1	1	6	1
406	P	Tübingen	Sinusitis	nein	40		2	1	1	3
555	P	Heidelberg	Grippaler Infekt	nein	24	28	2	1	6	1
Zentrales und peripheres Nervensystem										
407	W	Tübingen	Kopfschmerzen	nein	8	25	1	1	1	1
409	W	Tübingen	Schwindelgefühl	nein	19	21	1	1	1	1
411	P	Tübingen	Kopfschmerzen	nein	1	1	2	1	1	1
Haut und Hautanhangsgebilde										
553	W	Heidelberg	Juckreiz an den Armen	nein	8	15	1	2	1	1
410	P	Tübingen	Verschlechterung einer vorbestehenden, seit Jahren rezidivierend auftretenden Hautrötung	nein	10	34	1	1	6	1
Verdauungstrakt										
403	P	Tübingen	Bauchschmerzen, Bauchkrämpfe	nein	5	11	2	2	6	1
550	P	Heidelberg	Diarrhoe	nein	3	5	1	2	1	1
Muskel- und Skelettsystem										
549	W	Heidelberg	Bandscheibenvorfall	nein	6		2	1	4	2
Bindegewebsveränderungen										
552	W	Heidelberg	Geschwollener linker Fuß (durch Arthritis)	nein	31		2	1	1	3

Legende siehe Tabelle 30

Nach Therapiebeginn traten in der Weidenrindengruppe 7 Unerwünschte Ereignisse bei 7 Patienten auf, in der Placebogruppe waren es 7 Unerwünschte Ereignisse bei 6 Patienten. Von den 14 Unerwünschten Ereignissen wurde bei 11 ein Zusammenhang mit der Prüfmedikation vom Prüfarzt als unwahrscheinlich eingestuft. Nur 3 Unerwünschte Ereignisse können durch einen möglichen Zusammenhang mit der Prüfmedikation als Unerwünschte Arzneimittelwirkung bezeichnet werden (1 Weidenrinde, 2 Placebo). Bei der Unerwünschten Arzneimittelwirkung des Weidenrindenpatienten handelte es sich um „Juckreiz an den Armen“, der jedoch als „leicht“ eingestuft wurde und ohne Absetzen der Prüfmedikation und ohne zusätzliche Behandlungen wieder verschwand. Die am häufigsten genannten Unerwünschten Ereignisse waren Erkältungskrankheiten.

Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen hinsichtlich des Auftretens Unerwünschter Ereignisse sind statistisch nicht auffällig: Der Vergleich der Anzahl der Patienten mit Unerwünschten Ereignissen ergibt einen p-Wert von 0,695 (Chi-Quadrat-Test), der Vergleich der Häufigkeit Unerwünschter Ereignisse pro Patient einen p-Wert von 0,862 (Kruskal-Wallis-Test).

4.2.7.4 Schlussfolgerungen zur Sicherheit

Der Weidenrindenextrakt wurde von den Patienten als gut verträglich beurteilt. Die erhobenen Laborwerte ergeben keinen Hinweis auf systematische Laborwertveränderungen unter Weidenrinde. Nur bei einem Unerwünschten Ereignis eines Weidenrindenpatienten wurde der Zusammenhang mit der Prüfmedikation als möglich eingestuft. Dabei handelte es sich um leichten Juckreiz an den Armen, der ohne Absetzen der Prüfmedikation und ohne zusätzliche Behandlungen vollständig zurückging. Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass es sich hierbei um eine leichte allergische Reaktion handelte.

Zur Beurteilung der Sicherheit einer Therapie mit Weidenrindenextrakt muss jedoch berücksichtigt werden, dass die Anzahl von 13 mit Weidenrinde behandelten Patienten gering ist. Aus den Studienergebnissen lassen sich daher hinsichtlich der Sicherheit keine validen Schlussfolgerungen ziehen.

5 Diskussion

5.1 Pharmakologische Untersuchungen

Die im Rahmen der vorliegenden Arbeit durchgeführten pharmakologischen Untersuchungen zeigen, dass standardisierter Weidenrindenextrakt in vitro die COX-1- und COX-2-Aktivität und in geringerem Ausmaß die Freisetzung von TNF α und IL-1 β hemmt. Jedoch wurde in keinem der verwendeten Testsysteme eine Hemmung der COX-Aktivität oder Zytokin-Freisetzung nach oraler Einnahme einer therapeutischen Dosis des gleichen Weidenrindenextraktes durch gesunde Probanden nachgewiesen. Offensichtlich erreichten die für den in vitro-Effekt verantwortlichen Inhaltsstoffe keine ausreichend hohen Konzentrationen im Blut der Probanden. Dies könnte durch eine niedrige Konzentration der wirksamen Bestandteile im Extrakt oder durch pharmakokinetische Faktoren wie ein geringes Ausmaß der Resorption, eine metabolische Inaktivierung oder ein großes Verteilungsvolumen bedingt sein. Es ist beispielsweise möglich, dass die in vitro-Hemmung der Zyklooxygenase auf antioxidativen Effekten pflanzlicher Gerbstoffe beruht, die bekanntermaßen eine schlechte Bioverfügbarkeit aufweisen [Bravo 1998; Scalbert et al. 2000].

Die verwendeten Methoden sind valide. Die ermittelten IC₅₀-Werte der Referenzsubstanzen Diclofenac (COX-1-Assay), Celecoxib (COX-2-Assay) und Dexamethason (Zytokin-Assay) liegen in der Größenordnung von publizierten Werten dieser Substanzen im Vollblutassay [Finch-Arietta et al. 1991; Foster et al. 1993; Hartman et al. 1995; Brideau et al. 1996; Cryer et al. 1998; Chan et al. 1999]. Die Validität und Empfindlichkeit der ex vivo-Methoden wurde durch Kontrollversuche mit Diclofenac bestätigt, die mit früheren Studien vergleichbare Werte lieferten [Tegeger et al. 1999; Van Hecken et al. 2000].

Um die Power der ex vivo-Studie abschätzen zu können, wurde für jedes Testsystem die Wahrscheinlichkeit einer 80-prozentigen Hemmung durch Weidenrinde berechnet (t-Test, n=3). Dieser Wert, eine 80-prozentige Hemmung, wird für die COX-2-Aktivität zum Erzielen eines therapeutischen Effekts als notwendig betrachtet [Warner et al. 1999]. Die Power der Studie war ausreichend, um eine 80-prozentige Hemmung mit p<0,05 in allen Testsystemen zu allen Zeitpunkten ausschließen zu können, mit Ausnahme des 2-Stunden-Werts im COX-1-Assay (p=0,10). Daher waren die Ergebnisse der ex vivo-Studie trotz der geringen Probandenzahl (n=3) so deutlich, dass die ursprünglich vorgesehene Ausweitung der Studie auf 10 Probanden aus wissenschaftlichen und ethischen Gründen nicht gerechtfertigt erschien.

In der Probandenstudie wurden nur die Effekte nach Einnahme einer Einzeldosis Weidenrindenextrakt untersucht. Effekte im Steady State, nach einer mehrtägigen oder mehrwöchigen Einnahme von Weidenrindenextrakt, wurden nicht betrachtet. Untersuchungen mit Diclofenac [Tegeger et al. 1999], Nimesulid [Panara et al. 1998] und selbst mit dem lang-wirksamen Meloxicam [Tegeger et al. 1999] zeigen jedoch,

dass zumindest die Effekte dieser COX-Inhibitoren im Steady State nicht deutlicher ausgeprägt sind als nach einer Einzeldosis.

Die vorliegenden Ergebnisse der ex vivo-Untersuchungen stimmen mit den Ergebnissen der Studie zur Pharmakokinetik von Weidenrindenextrakt durch Schmid et al. [2001] überein: In den üblichen therapeutischen Dosierungen ergeben Weidenrindenpräparate keine therapeutischen Blutspiegel an Salicylsäure. Es ist daher nicht verwunderlich, dass die schwache Hemmung der COX-Aktivität durch freie Salicylate [Cryer et al. 1998; Giuliano et al. 2001] ex vivo nicht beobachtet werden konnte. Im 18. und 19. Jahrhundert wurden Weidenrinde oder der Inhaltsstoff Salicin jedoch in deutlich höheren als den heute üblichen Dosierungen angewendet [Stone 1763; Buchner 1828; Maclagan 1876]. So ist es denkbar, dass diese hohen Dosierungen analgetisch und eventuell auch antiinflammatorisch wirksame Salicylat-Serumkonzentrationen ergaben.

Mit den Ergebnissen dieser Arbeit vergleichbare Effekte wurden auch für Teufelskrallenpräparate beschrieben, die in Deutschland ebenfalls zur Behandlung rheumatischer Beschwerden zugelassen sind. Teufelskrallenwurzel-Extrakte zeigten in vitro in humanen Vollblutassays eine Hemmung der Calciumionophor A23187-stimulierten Cysteinyl-Leukotrien-Biosynthese und der gerinnungsinduzierten Thromboxan-Biosynthese. Dabei lagen die IC_{50} -Werte in der selben Größenordnung wie die in der vorliegenden Arbeit gefundenen IC_{50} -Werte für eine COX-, $TNF\alpha$ - und $IL-1\beta$ -Hemmung durch Weidenrindenextrakt [Tippler et al. 1996; Loew et al. 2001]. Nach oraler Einnahme von 1800 mg des gleichen Teufelskrallenwurzel-Extraktes durch drei gesunde Probanden konnte hingegen ex vivo im Blut der Probanden in keinem der beiden Testsysteme eine Hemmwirkung beobachtet werden [Loew et al. 2001]. Somit konnten auch für Extrakte aus Teufelskrallenwurzel in vitro-Effekte nach oraler Einnahme (ex vivo) nicht nachgewiesen werden.

Die vorliegenden pharmakologischen Untersuchungen widerlegen die Hypothese, dass eine orale Therapie mit dem untersuchten Weidenrindenextrakt so wie nicht-steroidale Antirheumatika über eine Hemmung der COX-2 wirken könnte. Behauptungen zum Wirkmechanismus der Weidenrinde über eine COX- und Zytokinhemmung ohne wissenschaftliche Nachweise [Chrubasik 2000; Chrubasik et al. 2001b; Chrubasik et al. 2002a; Chrubasik et al. 2002b] erscheinen damit nicht gerechtfertigt. Aus den vorliegenden pharmakologischen Untersuchungen kann jedoch nicht gefolgert werden, dass Weidenrindenextrakt klinisch unwirksam ist. Es ist denkbar dass andere, noch unerforschte Wirkmechanismen der Wirksamkeit von Weidenrinde zugrunde liegen.

5.2 Klinische Studie

In der vorliegenden Pilotstudie konnte eine Wirksamkeit von standardisiertem Weidenrindenextrakt bei Rheumatoider Arthritis nicht gezeigt werden. Die Ergebnisse der Pilotstudie geben keinen Hinweis, dass eine größere Studie in dieser Indikation lohnenswert wäre. Im Studienprotokoll wurde ein Therapieunterschied von mindestens 1,5 cm Schmerzverringern auf einer 10 cm-VAS als klinisch relevant angenommen. Um die Power der Studie einzuschätzen, wurde die Wahrscheinlichkeit berechnet, dass ein Therapievorteil des Weidenrindenextraktes gegenüber Placebo von mindestens 1,5 cm zwar tatsächlich besteht, aber in dieser Studie nicht nachgewiesen werden konnte. Diese Wahrscheinlichkeit beträgt 7% (einfache ANCOVA, Prüfzentrum und Ausgangsschmerzwert als Kovariablen). Somit ist die statistische Aussagekraft dieser Pilotstudie trotz der geringen Patientenzahl recht groß. Auch in Anbetracht der Tatsache, dass in keinem der erhobenen Zielparameter ein Therapievorteil der Weidenrinde nachgewiesen werden konnte, ist es unwahrscheinlich, dass eine Folgestudie mit mehr Patienten andere Schlussfolgerungen ergeben würde.

Die Hauptauswertung der Zielkriterien erfolgte durch eine ANCOVA (Analysis of covariance) unter Einbeziehung der Kovariablen Prüfzentrum und Baseline-Wert. Das Prüfzentrum diente als Kovariable, um einen möglichen Einfluss des Prüfzentrums auf die Zielparameter zu berücksichtigen. Der Baseline-Wert wurde als Kovariable einbezogen, weil die *Veränderung von Baseline* als Zielkriterium definiert wurde. Damit entspricht die im Studienprotokoll getroffene Festlegung der Kovariablen den Empfehlungen der EMEA [2001].

Um zu überprüfen, wie stark das Ergebnis im Hauptzielkriterium vom gewählten statistischen Test abhängt, wurden zusätzlich zur Hauptauswertung durch die einfache ANCOVA ergänzende Auswertungen vorgenommen. Das Studienprotokoll sah die ergänzende Auswertung durch eine Repeated Measurement ANCOVA vor, in der als zusätzliche Kovariable die Zeit modelliert wurde. Dabei wurde das Ergebnis der Hauptauswertung bestätigt. In einer post-hoc Analyse (nicht im Studienprotokoll vorgesehen) wurde ein einfacher t-Test ohne Einbeziehung von Kovariablen durchgeführt. Der p-Wert von 0,583 zeigt, dass auch ohne Berücksichtigung von Prüfzentrum und Ausgangsschmerzwert keine signifikanten Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen erkennbar sind. Somit sind die Ergebnisse robust, das heißt, verschiedene statistische Tests kommen zum gleichen Ergebnis.

In allen Zielkriterien zeigte sich eine hinsichtlich der Krankheitsaktivität ungleiche Verteilung der Patienten auf die Behandlungsgruppen. Da in dieser Studie von einer erfolgreichen Randomisierung ausgegangen werden kann, muss diese Ungleichverteilung auf Zufall beruhen. In der statistischen Auswertung wurden die unterschiedlichen Baseline-Werte als Kovariablen berücksichtigt. Dennoch ändert sich

auch ohne Einbeziehung der Baseline-Werte in die statistische Auswertung am Studienergebnis nichts (siehe oben).

Der Weidenrindenextrakt war insgesamt gut verträglich. Nur bei einem Weidenrindenpatienten trat ein Unerwünschtes Ereignis mit einem möglichen Zusammenhang mit der Prüfmedikation auf (leichter Juckreiz). Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass es sich hierbei um eine allergische Reaktion handelte. Da bereits andere Studien Hinweise auf ein allergisches Potenzial von Weidenrindenextrakt ergaben (vgl. Abschnitt 2.1.7), ist diese Beobachtung von besonderem Interesse.

In der vorliegenden Studie wurde entsprechend den allgemeinen Empfehlungen eine Mindestkrankheitsaktivität als Einschlusskriterium gefordert. Ca. 40% der gescreenten Patienten (34 von 89 Patienten) wurden von einer Studienteilnahme ausgeschlossen, weil sie die Aktivitätskriterien nicht erfüllten. Hier wird die Veränderung in der Behandlungsstrategie der Rheumatoiden Arthritis deutlich. Vor einigen Jahren wurden Patienten mit Rheumatoider Arthritis so lange wie möglich ausschließlich mit NSAR und erst spät im Krankheitsverlauf mit Basistherapeutika behandelt. Viele der Patienten wiesen damals nach Absetzen ihrer Schmerzmedikation eine hohe Krankheitsaktivität auf. Heute werden Basistherapeutika nach Diagnosestellung so früh wie möglich eingesetzt. Es gibt daher viele Patienten, die auf die Einnahme von NSAR ganz verzichten können (in Deutschland nahm der Anteil der RA-Patienten, die NSAR einnehmen, von ca. 75% im Jahr 1995 auf ca. 50% im Jahr 2000 ab [Zink et al. 2002]), oder die auf ein Absetzen der NSAR-Therapie nicht mit einer deutlichen Verschlechterung ihrer Krankheitsaktivität reagieren. Auch in Studien mit NSAR bei Rheumatoider Arthritis wird das Nicht-Erfüllen der Aktivitätskriterien als wesentlicher Grund für Screening-failures genannt [Schnitzer et al. 1999; Matsumoto et al. 2002].

Insgesamt wurden in dieser Studie 26 von 89 gescreenten Patienten randomisiert (29%). Tatsächlich interessierten sich noch deutlich mehr als die gescreenten 89 Patienten für eine Studienteilnahme, jedoch konnte eine Studienteilnahme bereits bei dem telefonischen Erstkontakt ausgeschlossen werden. Diese Beobachtung stimmt mit der Feststellung von Rau [2002] überein, dass wegen der strikten Ein- und Ausschlusskriterien nur ca. 10-20% der Patienten an rheumatologischen klinischen Studien teilnehmen können.

5.2.1 Vergleich mit NSAR-Studien bei Rheumatoider Arthritis

Wie bereits beschrieben, wurde im Studienprotokoll der klinisch relevante Unterschied in der Schmerzverringerung auf einer 10 cm-VAS zwischen Verum und Placebo auf 1,5 cm festgelegt. Dieser Wert wurde in einem Delphi-Konsensus-Verfahren von sechs Rheumatologen übereinstimmend festgesetzt [Bellamy 1993]. Betrachtet man neuere klinische Studien mit NSAR bei Rheumatoider Arthritis, so stellt man fest, dass 1,5 cm Unterschied zwischen Verum und Placebo nur in wenigen Studien erreicht werden. Tabelle 3 auf Seite 18 führt NSAR-Studien bei Rheumatoider Arthritis auf, die die international anerkannten Zielkriterien des ACR [Felson et al. 1993] bzw. der WHO/ILAR [Boers et al. 1994] verwenden. Bensen et al. [2002] berichten nach 12-wöchiger Therapie einen Unterschied in der Schmerzverringerung zwischen Valdecoxib (40 mg pro Tag) und Placebo von 1,77 cm und zwischen Naproxen (500 mg zweimal täglich) und Placebo von 1,56 cm (geschätzte Werte mittels ANCOVA; Prüfzentrum und Baseline-Wert als Kovariablen). Matsumoto et al. [2002] fanden für Etoricoxib (90 mg pro Tag) eine um 1,58 cm und für Naproxen (500 mg zweimal täglich) eine um 0,91 cm größere Schmerzreduktion im Vergleich zu Placebo (zeitgewichtete durchschnittliche Veränderung vom Baseline-Wert über 12 Wochen). Für Rofecoxib und Celecoxib werden gemessene Unterschiede im Vergleich zu Placebo von ca. 0,7 bis 1,1 cm angegeben [Schnitzer et al. 1999; Simon et al. 1999]. Allerdings lassen sich die Ergebnisse verschiedener Studien mit unterschiedlichen Designs und statistischen Auswertungen nur schwer vergleichen. Dennoch ließe sich aus diesen Werten ableiten, dass Weidenrindenextrakt auch bei einer Schmerzreduktion von ca. 1 cm im Vergleich zu Placebo eine Alternative zu anderen Schmerzmitteln darstellen könnte. Die Power-Analyse der vorliegenden Pilotstudie zeigt, dass ein Therapievorteil der Weidenrinde von mindestens 1 cm mit 83-prozentiger Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden kann.

In dieser Pilotstudie lagen die Placeboeffekte deutlich unter den in anderen Studien gemessenen Effekten. Bei den in Tabelle 3 auf Seite 18 aufgeführten Studien lag die Schmerzreduktion in den Placebogruppen zwischen 0,9 und 1,7 cm. Der Anteil der ACR-20-Responder betrug zwischen 27 und 35%. Demgegenüber verbesserten sich in der Weidenrindenstudie die Placebopatienten nur um durchschnittlich 0,2 cm. Nur einer von 13 Placebopatienten erfüllte die Kriterien für eine ACR-20-Response (8%). Mit Ausnahme der Studie von Emery et al. [1999] verwendeten alle zitierten Studien ein Flare-Design. Das bedeutet, die Patienten mussten nach der Auswaschphase eine Mindestkrankheitsaktivität und eine Verschlechterung im Vergleich zur Screening-Visite aufweisen („Flare“). Bei den Studien von Geusens et al. [2002], Schnitzer et al. [1999], Bensen et al. [2002] und Matsumoto et al. [2002] wurde ausdrücklich die Einnahme von NSAR vor Studienbeginn als Einschlusskriterium gefordert. Durch das Absetzen der NSAR bei Studienbeginn konnten sich die Patienten während der Auswaschphase tatsächlich oder auch nur vermeintlich verschlechtern

(Erwartungs-Bias). Es ist daher möglich, dass die Baseline-Werte aufgrund der erwarteten Verschlechterung eine höhere als die tatsächliche Krankheitsaktivität darstellen und sich die Patienten mit Beginn der Prüfphase unabhängig von der Therapie verbessern. Auch die geforderte Mindestaktivität birgt die Gefahr, dass überhöhte Baseline-Werte angegeben werden, um Patienten in eine Studie aufnehmen zu können [Rau 2002]. Dies wird besonders bei Gelenkzählungen deutlich, bei denen Ärzte bei der Baseline-Visite häufig eine höhere Anzahl druckschmerzhafter oder geschwollener Gelenke zählen als bei den Folgevisiten. Aus den genannten Gründen wird bei Studien mit Flare-Design vielfach eine hohe Placebo-Response beobachtet [FDA 1999]. In der vorliegenden Weidenrindenstudie wurde eine Einnahme von NSAR vor Studienbeginn nicht als Einschlusskriterium gefordert. Ca. 65% der Patienten (17 von 26) nahmen vor Studienbeginn NSAR ein, etwa die Hälfte dieser Patienten jedoch nur bei Bedarf (8 von 17). Es ist daher anzunehmen, dass die erwartete Verschlechterung während der Auswaschphase eine geringere Rolle spielt als bei den zitierten Studien. Es ist jedoch denkbar, dass durch die Forderung einer Mindestkrankheitsaktivität teilweise überhöhte Baseline-Werte angegeben wurden. Dies könnte die Abnahme der Anzahl druckschmerzhafter und geschwollener Gelenke um 2 Gelenke bzw. 1 Gelenk in der Placebogruppe mitbegründen.

Im Einklang mit den obigen Ausführungen steht die Beobachtung, dass die Baseline-Schmerzwerte in der vorliegenden Studie (Weidenrinde 5,5 cm; Placebo 4,5 cm) in der selben Größenordnung wie die bei Emery et al. [1999] gemessenen Ausgangsschmerzwerte liegen, jedoch niedriger als bei Studien mit Flare-Design (Ausgangsschmerzwerte zwischen 6,5 und 7 cm bei Simon et al. [1999] und bei Bensen et al. [2002]).

5.2.2 Vergleich mit Weidenrindenstudien

Zeitgleich und mit vergleichbaren Rahmenbedingungen wie die vorliegende Pilotstudie bei Patienten mit Rheumatoider Arthritis wurde eine randomisierte, kontrollierte, doppelblinde Studie bei ambulanten Patienten mit Cox- und Gonarthrose durchgeführt [Biegert 2003]. Zusätzlich zu den Behandlungsgruppen mit Weidenrinde (entsprechend 240 mg Salicin pro Tag) und Placebo wurde eine Diclofenac-Gruppe (100 mg pro Tag) aufgenommen. Die Auswaschphase dauerte analog zur RA-Studie 4 bis 10 Tage, die Prüfphase 6 Wochen. Ziel der Studie war die Überprüfung der von Schmid et al. [2000] beschriebenen Wirksamkeit des Weidenrindenextraktes bei ambulanten Arthrosepatienten und der Vergleich der Wirkstärke von Weidenrindenextrakt mit Diclofenac.

127 Patienten wurden randomisiert (43 Weidenrinde, 43 Diclofenac, 41 Placebo). Im Hauptzielkriterium, der Veränderung der Schmerzdimension des WOMAC-Arthrose-Indexes, zeigte sich am Ende der sechswöchigen Prüfphase kein signifikanter Unterschied zwischen Weidenrinde und Placebo (geschätzter Unterschied: -0,28 cm; 95%-C.I.: -1,21 bis 0,64 cm; $p = 0,548$; ANCOVA). Der Unterschied zwischen Diclofe-

nac und Placebo wurde hingegen mit $-1,80$ cm (95%-C.I.: $-2,72$ bis $-0,88$ cm; $p=0,0002$; ANCOVA) berechnet. Diese Ergebnisse wurden durch alle Nebenzielkriterien (WOMAC-Teilscores zu Steifigkeit und Funktionsfähigkeit, WOMAC-Gesamtscore, Gesamtbeurteilung des Therapieerfolgs durch Patient und Arzt, Beurteilung der Lebensqualität durch den SF-36) unterstützt. Damit konnte die von Schmid et al. [2000] beobachtete Wirksamkeit des Weidenrindenextraktes in dieser Studie nicht bestätigt werden. Die Qualität und Power der Studie zeigen sich in der deutlich nachgewiesenen Wirksamkeit von Diclofenac.

Insgesamt ergibt sich mit Abschluss der Arthrose-Studie von Biegert [2003] und der im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten RA-Pilotstudie kein einheitliches Bild bezüglich der klinischen Wirksamkeit von standardisiertem Weidenrindenextrakt (Tabelle 33).

Tabelle 33: Randomisierte, kontrollierte Studien mit Weidenrindenextrakt. Das Ergebnis bezieht sich auf die Wirksamkeit des untersuchten Weidenrindenextraktes.

Studie	Kontrolle	Indikation	Ergebnis
Schmid et al. [2000]	Placebo	Arthrose	positiv
Chrubasik et al. [2000]	Placebo	Rückenschmerzen	positiv
Chrubasik et al. [2001b]	Rofecoxib	Rückenschmerzen	positiv
Biegert [2003]	Diclofenac, Placebo	Arthrose	negativ
Vorliegende Pilotstudie	Placebo	Rheumatoide Arthritis	negativ

In der Arthrose-Studie von Biegert [2003] und der vorliegenden Studie bei Rheumatoider Arthritis wurde der eingesetzte Weidenrindenextrakt von der Firma Finzelberg in Andernach bezogen; es wurden identische Chargen verwendet. Schmid et al. [2000] erhielten den Extrakt von Salushaus in Bruckmühl. Extraktionsmittel und Salicingehalt waren bei beiden Extrakten gleich. Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass Unterschiede in der Extraktzusammensetzung die Studienergebnisse beeinflussen. Es ist dennoch sehr unwahrscheinlich, dass geringfügige Schwankungen in der Extraktzusammensetzung zu grundsätzlich verschiedenen Studienergebnissen führen.

Die von Chrubasik et al. [2000; 2001b] durchgeführten Rückenschmerzstudien lassen sich mit den Studien bei Arthrose und Rheumatoider Arthritis nur schwer vergleichen. Während zur Diagnose der Cox- und Gonarthrose und der Rheumatoiden Arthritis präzise Diagnosekriterien vorliegen [Altman et al. 1986; Arnett et al. 1988; Altman et al. 1991], existieren diese für Rückenschmerzen nicht [Deutsche Gesellschaft für Rheumatologie 2000]. Somit wurde in diesen Studien ein sehr variables Patientenkollektiv untersucht. Weiterhin wurde mit dem „Anteil schmerzfreier Patienten“ ein Hauptzielkriterium gewählt, das international nicht anerkannt ist.

Die beiden Arthrose-Studien von Schmid et al. [2000] und Biegert [2003] entsprechen in ihrem Design den internationalen Empfehlungen [Bellamy et al. 1997]. Sie unterscheiden sich im untersuchten Patientenkollektiv: Während Schmid et al. [2000] stationäre Patienten einer Rheuma-Klinik untersuchten, wählte Biegert [2003] ein ambulantes Studiendesign, das die Bedingungen der klinischen Praxis besser wiedergibt. Weiterhin betrug die Prüfphase bei Schmid et al. [2000] 2 Wochen, bei Biegert [2003] hingegen 6 Wochen. Über die zweiwöchige Prüfphase war bei Schmid et al. [2000] eine zunehmende Schmerzlinderung unter Weidenrindentherapie zu erkennen, die allerdings erst beim Hauptmesszeitpunkt nach 14 Tagen knapp statistische Signifikanz erreichte ($p=0,047$). Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass dieser Verlauf keinen echten Trend, sondern zufällige Schwankungen widerspiegelt. Auffällig ist der fehlende Placeboeffekt, der üblicherweise zu einer deutlichen Verringerung der Gruppenunterschiede führt. Die bei Schmid et al. [2000] gemessene Schmerzverringerung (Studienende versus Baseline) in der Weidenrindengruppe war mit 0,48 cm nicht sehr hoch. Da sich die Placebogruppe aber um 0,1 cm verschlechterte, erreichte der Unterschied zwischen Weidenrinde und Placebo in der Auswertung (ANOVA) statistische Signifikanz. In der Studie von Biegert [2003] lag der Placeboeffekt mit einer Verbesserung von 0,50 cm (Studienende versus Baseline) in der üblichen Größenordnung.

Die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführte Pilotstudie bei Rheumatoider Arthritis ist die erste Studie, die die Wirksamkeit von Weidenrindenextrakt bei einer entzündlichen rheumatischen Erkrankung untersucht. Dabei zeigte sich weder eine analgetische (Schmerz-VAS, druckschmerzhafte Gelenke), noch eine antiinflammatorische (geschwollene Gelenke, BSG, CRP) Wirksamkeit. Obwohl in der Beurteilung der Lebensqualität keine statistisch signifikanten Unterschiede auftraten, war eine deutliche Überlegenheit der Weidenrinde in den Subskalen Emotionale und Körperliche Rollenfunktion zu erkennen. Wie in Abschnitt 4.2.6.3 dargestellt, beruhen diese Unterschiede auf der deutlichen Veränderung einzelner Patienten. Es scheint, als ob bei einigen Weidenrindenpatienten die durch seelische oder körperliche Probleme bedingten Schwierigkeiten bei der Arbeit oder bei alltäglichen Tätigkeiten abgenommen hätten. Im Vergleich hierzu wurde bei der Arthrose-Studie von Biegert [2003] in den genannten Subskalen kein Unterschied zwischen Weidenrinde und Placebo festgestellt ($p=0,89$ bzw. $p=0,77$). Dies unterstützt die Vermutung, dass es sich nicht um tatsächliche, sondern um zufällige Gruppenunterschiede handelt, wie sie bei multiplen Testungen auftreten können. Daher lassen sich aus diesen Ergebnissen keine neuen Hypothesen generieren.

5.3 Fazit

Die im Rahmen der vorliegenden Arbeit durchgeführten pharmakologischen und klinischen Untersuchungen unterstützen die These einer Wirksamkeit von standardisiertem Weidenrindenextrakt nicht. Zusammen mit der Arthrose-Studie von Biegert [2003] und der Pharmakokinetik-Studie von Schmid et al. [2001] erhöht sich die Evidenz gegen eine Wirksamkeit von Weidenrindenextrakt. Wie von Schmid et al. [2001] gezeigt, erreichen die im Weidenrindenextrakt enthaltenen Salicylate nach Einnahme üblicher Dosen keine therapeutischen Serumkonzentrationen und können eine Wirksamkeit alleine nicht begründen. In den in dieser Arbeit durchgeführten pharmakologischen Untersuchungen konnte nach oraler Einnahme von Weidenrindenextrakt keine Hemmung der COX-1- und COX-2-Aktivität oder der TNF α - und IL-1 β -Freisetzung nachgewiesen werden. Dies zeigt, dass nicht nur die Salicylsäurederivate, sondern auch andere Inhaltsstoffe nicht in ausreichenden Konzentrationen im Blut vorliegen, um eine entsprechende Hemmung zu bewirken. In Anbetracht der widersprüchlichen klinischen Datenlage ist es wahrscheinlich, dass Weidenrindenextrakte langfristig nur dann einen Platz in der Schmerztherapie einnehmen können, wenn der Nachweis eines pharmakologischen Wirkmechanismus gelingt.

6 Literatur

- Akao T, Yoshino T, Kobashi K, Hattori M (2002) Evaluation of salicin as an antipyretic prodrug that does not cause gastric injury. *Planta Med* 68: 714-718
- Altman R, Alarcon G, Appelrouth D, Bloch D, Borenstein D, et al. (1991) The American College of Rheumatology criteria for the classification and reporting of osteoarthritis of the hip. *Arthritis Rheum* 34: 505-514
- Altman R, Asch E, Bloch D, Bole G, Borenstein D, et al. (1986) Development of criteria for the classification and reporting of osteoarthritis. Classification of osteoarthritis of the knee. Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee of the American Rheumatism Association. *Arthritis Rheum* 29: 1039-1049
- American College of Rheumatology (2002) Guidelines for the management of rheumatoid arthritis: 2002 Update. *Arthritis Rheum* 46: 328-346
- Ammon HPT (2002) Boswelliasäuren (Inhaltsstoffe des Weihrauchs) als wirksame Prinzipien zur Behandlung chronisch entzündlicher Erkrankungen. *Wien Med Wochenschr* 152: 373-378
- Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, McShane DJ, Fries JF, et al. (1988) The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 31: 315-324
- Asadullah K, Docke WD, Reinke P, Sterry W, Volk HD (1997) Zytokinbestimmungen. Diagnostischer Einsatz aus klinisch-immunologischer Sicht. *Dtsch Med Wochenschr* 122: 1424-1431
- Bellamy N (1993) *Musculoskeletal Clinical Metrology*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht
- Bellamy N, Buchanan WW, Goldsmith CH, Campbell J, Stitt LW (1988) Validation study of WOMAC: a health status instrument for measuring clinically important patient relevant outcomes to antirheumatic drug therapy in patients with osteoarthritis of the hip or knee. *J Rheumatol* 15: 1833-1840
- Bellamy N, Kirwan J, Boers M, Brooks P, Strand V, et al. (1997) Recommendations for a core set of outcome measures for future phase III clinical trials in knee, hip, and hand osteoarthritis. Consensus development at OMERACT III. *J Rheumatol* 24: 799-802
- Bensen W, Weaver A, Espinoza L, Zhao WW, Riley W, et al. (2002) Efficacy and safety of valdecoxib in treating the signs and symptoms of rheumatoid arthritis: a randomized, controlled comparison with placebo and naproxen. *Rheumatology (Oxford)* 41: 1008-1016
- Biegert C (2003) *Dissertationsschrift, Universität Tübingen, Fakultät für Chemie und Pharmazie, in Vorbereitung*
- Blain H, Boileau C, Lopicque F, Nedelec E, Loeuille D, et al. (2002) Limitation of the in vitro whole blood assay for predicting the COX selectivity of NSAIDs in clinical use. *Br J Clin Pharmacol* 53: 255-265
- Bochud PY, Calandra T (2003) Pathogenesis of sepsis: new concepts and implications for future treatment. *BMJ* 326: 262-266

- Boers M, Tugwell P, Felson D, van Riel P, Kirwan J, et al. (1994) World Health Organization and International League of Associations for Rheumatology core endpoints for symptom modifying antirheumatic drugs in rheumatoid arthritis clinical trials. *J Rheumatol* 21 (Suppl 41): 86-89
- Böger RH, Schmidt G (2003) Antirheumatika und Antiphlogistika. In: *Arzneiverordnungsreport 2002*. Hrsg.: Schwabe U, Pfaffrath D; Springer-Verlag, Berlin. S. 252-278
- Bombardier C, Laine L, Reicin A, Shapiro D, Burgos-Vargas R, et al. (2000) Comparison of upper gastrointestinal toxicity of rofecoxib and naproxen in patients with rheumatoid arthritis. VIGOR Study Group. *N Engl J Med* 343: 1520-1528
- Bräuer W, Merkesdal S, Mau W (2002) Langzeitverlauf und Prognose der Erwerbstätigkeit im Frühstadium der chronischen Polyarthrit. *Z Rheumatol* 61: 426-434
- Bravo L (1998) Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr Rev* 56: 317-333
- Brideau C, Kargman S, Liu S, Dallob AL, Ehrich EW, et al. (1996) A human whole blood assay for clinical evaluation of biochemical efficacy of cyclooxygenase inhibitors. *Inflamm Res* 45: 68-74
- Brooks P, Emery P, Evans JF, Fenner H, Hawkey CJ, et al. (1999) Interpreting the clinical significance of the differential inhibition of cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2. *Rheumatology (Oxford)* 38: 779-788
- Brooks PM (1994) Protocol for evaluation of nonsteroidal antiinflammatory drugs. *J Rheumatol* 21 (Suppl 41): 82-85
- Brühl A, Schmid B, Feser H, Heide L (1997) Wie stufen Laien pflanzliche und synthetische Arzneimittel ein? *Pharmazeutische Zeitung* 142: 11-19
- Bucher K, Plattner G-R (1987) Zum Wirkungsnachweis relativ harmloser analgesierender Arzneien. *Dokumentation Valverde*; Ciba Geigy, Basel
- Buchner A (1828) Über das Rigatellische Fiebermittel und über eine in der Weidenrinde entdeckte alkaloidische Substanz. *Repertorium für die Pharmacie* 29: 405-421
- Buchner A (1831) Über die Heilkräfte des Salicins. *Repertorium für die Pharmacie* 39: 433-455
- Bullinger M (1995) German translation and psychometric testing of the SF-36 Health Survey: preliminary results from the IQOLA Project. *International Quality of Life Assessment. Soc Sci Med* 41: 1359-1366
- Chan CC, Boyce S, Brideau C, Charleson S, Cromlish W, et al. (1999) Rofecoxib [Vioxx, MK-0966; 4-(4'-methylsulfonylphenyl)-3-phenyl-2-(5H)-furanone]: a potent and orally active cyclooxygenase-2 inhibitor. Pharmacological and biochemical profiles. *J Pharmacol Exp Ther* 290: 551-560
- Chandrasekharan NV, Dai H, Roos KL, Evanson NK, Tomsik J, et al. (2002) From the Cover: COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: Cloning, structure, and expression. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99: 13926-13931

- Choy EH, Panayi GS (2001) Cytokine pathways and joint inflammation in rheumatoid arthritis. *N Engl J Med* 344: 907-916
- Chrubasik S (2000) Weidenrindenextrakt. *Deutsche Apotheker Zeitung* 140: 3825-3827
- Chrubasik S, Eisenberg E, Balan E, Weinberger T, Luzzati R, et al. (2000) Treatment of low back pain exacerbations with willow bark extract: a randomized double-blind study. *Am J Med* 109: 9-14
- Chrubasik S, Fiebich B, Black A, Pollak S (2002a) Treating low back pain with a Salix extract that inhibits COX-2 release and the release of cytokines. *Eur J Anaesthesiol* 19 (Suppl): 209-210
- Chrubasik S, Künzel O, Black A, Conradt C, Kerschbaumer F (2001a) Potential economic impact of using a proprietary willow bark extract in outpatient treatment of low back pain: an open non-randomized study. *Phytomedicine* 8: 241-251
- Chrubasik S, Künzel O, Model A, Conradt C, Black A (2001b) Treatment of low back pain with a herbal or synthetic anti-rheumatic: a randomized controlled study. Willow bark extract for low back pain. *Rheumatology (Oxford)* 40: 1388-1393
- Chrubasik S, Pollak S (2002b) Schmerzbehandlung mit pflanzlichen Antirheumatika. *Wien Med Wochenschr* 152: 198-203
- Chrubasik S, Pollak S, Conradt C (2002c) Wir haben keineswegs Äpfel mit Birnen verglichen. *MMW Fortschr Med* 144: 10
- Cockcroft DW, Gault MH (1976) Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron* 16: 31
- Cryer B, Feldman M (1998) Cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 selectivity of widely used nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Am J Med* 104: 413-421
- Dayer JM (2002) The saga of the discovery of IL-1 and TNF and their specific inhibitors in the pathogenesis and treatment of rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine* 69: 123-132
- Deutsche Gesellschaft für Rheumatologie (2000) Qualitätssicherung in der Rheumatologie. http://www.rheumanet.org/qs_dgrh/default.htm
- Deutsche Gesellschaft für Rheumatologie (2001) Stellungnahme der Deutschen Gesellschaft für Rheumatologie (Kommission Pharmakotherapie) zur Anwendung spezifischer COX-2-Inhibitoren bei rheumatischen Erkrankungen (Stand August 2001). *Z Rheumatol* 60: 527-530
- Deutsche Pharmakologische Gesellschaft (1979) Klinisch-chemische Untersuchungen. *Pharm Ind* 41: 903-905
- Dinarello CA (2000) Proinflammatory cytokines. *Chest* 118: 503-508
- Dinarello CA, Pomerantz BJ (2001) Proinflammatory cytokines in heart disease. *Blood Purif* 19: 314-321
- Ehrich EW, Dallob A, De Lepeleire I, Van Hecken A, Riendeau D, et al. (1999) Characterization of rofecoxib as a cyclooxygenase-2 isoform inhibitor and demonstration of analgesia in the dental pain model. *Clin Pharmacol Ther* 65: 336-347
- EMA (1995) Note for guidance on structure and content of clinical study reports (CPMP/ICH/137/95). <http://www.emea.eu.int/pdfs/human/ich/013795en.pdf>

- EMA (2000) Points to consider on switching between superiority and non-inferiority. <http://www.emea.eu.int/pdfs/human/ewp/048299en.pdf>
- EMA (2001) Points to consider on adjustment for baseline covariates (Draft). <http://www.emea.eu.int/pdfs/human/ewp/286399en.pdf>
- EMA (2002) Points to consider on clinical investigation of medicinal products for treatment of rheumatoid arthritis (Draft). <http://www.emea.eu.int/pdfs/human/ewp/055695en.pdf>
- Emery P, Zeidler H, Kvien TK, Guslandi M, Naudin R, et al. (1999) Celecoxib versus diclofenac in long-term management of rheumatoid arthritis: randomised double-blind comparison. *Lancet* 354: 2106-2111
- Ernst E (2001) Kostenersparnis durch Phytos? *MMW Fortschr Med* 143: 21
- Ernst E, Chrubasik S (2000) Phyto-anti-inflammatories. A systematic review of randomized, placebo-controlled, double-blind trials. *Rheum Dis Clin North Am* 26: 13-27
- ESCOP Scientific Committee (1997) Salicis cortex - Willow Bark. In: Monographs on the medicinal uses of plant drugs. Hrsg.: European Scientific Cooperative on Phytotherapy; ESCOP, Exeter. Fascicule 4: S. 1-7
- Europäische Arzneibuch-Kommission (2002) Weidenrinde - Salicis cortex. In: Europäisches Arzneibuch 4. Ausgabe. Hrsg.: Europarat; Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart. S. 3149-3151
- FDA (1977, revised 1988) Guidelines for the clinical evaluation of anti-inflammatory and antirheumatic drugs (adults and children). <http://www.fda.gov/cder/guidance/old048fn.pdf>
- FDA (1999) Guidance for Industry: Clinical development programs for drugs, devices, and biological products for the treatment of rheumatoid arthritis. <http://www.fda.gov/cder/guidance/1208fnl.pdf>
- Felson DT, Anderson JJ, Boers M, Bombardier C, Chernoff M, et al. (1993) The American College of Rheumatology preliminary core set of disease activity measures for rheumatoid arthritis clinical trials. The Committee on Outcome Measures in Rheumatoid Arthritis Clinical Trials. *Arthritis Rheum* 36: 729-740
- Felson DT, Anderson JJ, Boers M, Bombardier C, Furst D, et al. (1995) American College of Rheumatology. Preliminary definition of improvement in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 38: 727-735
- Felson DT, Anderson JJ, Lange ML, Wells G, LaValley MP (1998) Should improvement in rheumatoid arthritis clinical trials be defined as fifty percent or seventy percent improvement in core set measures, rather than twenty percent? *Arthritis Rheum* 41: 1564-1570
- Fenner H (1997) Differentiating among nonsteroidal antiinflammatory drugs by pharmacokinetic and pharmacodynamic profiles. *Semin Arthritis Rheum* 26: 28-33
- Finch-Arietta MB, Cochran FR (1991) Cytokine production in whole blood ex vivo. *Agents Actions* 34: 49-52
- FitzGerald GA, Patrono C (2001) The coxibs, selective inhibitors of cyclooxygenase-2. *N Engl J Med* 345: 433-442

- Fleming LW (1999) A medical bouquet. Poppies, cinchona and willow. *Scott Med J* 44: 176-179
- Foster SJ, McCormick LM, Ntolosi BA, Campbell D (1993) Production of TNF alpha by LPS-stimulated murine, rat and human blood and its pharmacological modulation. *Agents Actions* 38 (Suppl): C77-79
- Fötsch G, Pfeifer S (1989) Die Biotransformation der Phenolglycoside Leiocarposid und Salicin - Beispiele für Besonderheiten von Absorption und Metabolismus glycosidischer Verbindungen. *Pharmazie* 44: 710-712
- Fötsch G, Pfeifer S (1990) Vergleichende Serumspiegeluntersuchung von Salicylsäure nach oraler Applikation von Salicin bzw. Natriumsalicylat in Ratten. *Pharmazie* 45: 535-536
- Fu JY, Masferrer JL, Seibert K, Raz A, Needleman P (1990) The induction and suppression of prostaglandin H₂ synthase (cyclooxygenase) in human monocytes. *J Biol Chem* 265: 16737-16740
- Fuchs HA, Brooks RH, Callahan LF, Pincus T (1989) A simplified twenty-eight-joint quantitative articular index in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 32: 531-537
- Fuchs L (2001) *Das Kräuterbuch von 1543*. Taschen GmbH, Köln
- Funk CD (2001) Prostaglandins and leukotrienes: advances in eicosanoid biology. *Science* 294: 1871-1875
- Gabriel SE (2001) The epidemiology of rheumatoid arthritis. *Rheum Dis Clin North Am* 27: 269-281
- Garner S, Fidan D, Frankish R, Judd M, Shea B, et al. (2002a) Celecoxib for rheumatoid arthritis (Cochrane Review). *The Cochrane Library, Issue 4: Oxford: Update Software*
- Garner S, Fidan D, Frankish R, Judd M, Towheed T, et al. (2002b) Rofecoxib for the treatment of rheumatoid arthritis (Cochrane Review). *The Cochrane Library, Issue 4: Oxford: Update Software*
- Genth E (1993) Labormedizinische Diagnostik rheumatischer Erkrankungen. *Internist* 34: 817-824
- Geusens PP, Truitt K, Sfikakis P, Zhao PL, DeTora L, et al. (2002) A placebo and active comparator-controlled trial of rofecoxib for the treatment of rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol* 31: 230-238
- Giuliano F, Mitchell JA, Warner TD (2001) Sodium salicylate inhibits prostaglandin formation without affecting the induction of cyclooxygenase-2 by bacterial lipopolysaccharide in vivo. *J Pharmacol Exp Ther* 299: 894-900
- Glinko A (1998) Pharmacological properties of a standardized extract from willow bark (cortex salicis). *Dissertationschrift, Universität Stettin*
- Hannig H-J (2001) Der Anbau von Pharmaweide in Thüringen. *Drogenreport* 14: 29-32
- Hartman DA, Ochalski SJ, Carlson RP (1995) The effects of antiinflammatory and antiallergic drugs on cytokine release after stimulation of human whole blood by lipopolysaccharide and zymosan A. *Inflamm Res* 44: 269-274
- Hawkey CJ (1999) COX-2 inhibitors. *Lancet* 353: 307-314

- Hedner T, Everts B (1998) The early clinical history of salicylates in rheumatology and pain. *Clin Rheumatol* 17: 17-25
- Henry D, Lim LL, Garcia Rodriguez LA, Perez Gutthann S, Carson JL, et al. (1996) Variability in risk of gastrointestinal complications with individual non-steroidal anti-inflammatory drugs: results of a collaborative meta-analysis. *BMJ* 312: 1563-1566
- Hinz B, Brune K (2000a) New insights into physiological and pathophysiological functions of cyclo-oxygenase-2. *Curr Opin Anaesthesiol* 13: 585-590
- Hinz B, Brune K (2000b) Spezifische Zyklooxygenase-2-Inhibitoren - Grundlagen und Optionen eines pharmakotherapeutischen Prinzips. *Anaesthesist* 49: 964-971
- Hinz B, Brune K (2002) Cyclooxygenase-2--10 years later. *J Pharmacol Exp Ther* 300: 367-375
- Hochberg MC, Chang RW, Dwosh I, Lindsey S, Pincus T, et al. (1992) The American College of Rheumatology 1991 revised criteria for the classification of global functional status in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 35: 498-502
- Hrachovec JB, Mora M (2001) Reporting of 6-month vs 12-month data in a clinical trial of celecoxib. *JAMA* 286: 2398
- Jawaheer D, Gregersen PK (2002) Rheumatoid arthritis. The genetic components. *Rheum Dis Clin North Am* 28: 1-15
- Jenkins JK, Hardy KJ, McMurray RW (2002) The pathogenesis of rheumatoid arthritis: a guide to therapy. *Am J Med Sci* 323: 171-180
- Julkunen-Titto R (1989) Phenolic constituents of *Salix*: a chemotaxonomic survey of further finnish species. *Phytochemistry* 28: 2115-2125
- Jüni P, Rutjes AW, Dieppe PA (2002) Are selective COX 2 inhibitors superior to traditional non steroidal anti-inflammatory drugs? *BMJ* 324: 1287-1288
- Kato K, Ohkawa S, Terao S, Terashita Z, Nishikawa K (1985) Thromboxane synthetase inhibitors (TXSI). Design, synthesis, and evaluation of a novel series of *omega*-pyridylalkenoic acids. *J Med Chem* 28: 287-294
- Kaul R, Lagoni N (1999) Weidenrinde - Renaissance eines Phytoanalgetikums. *Deutsche Apotheker Zeitung* 139: 3439-3446
- Kolodziej H (1990) Oligomeric flavan-3-ols from medicinal willow bark. *Phytochemistry* 29: 955-960
- Kommission E (1984) Bekanntmachung über die Zulassung und Registrierung von Arzneimitteln: Monographie *Salicis cortex*. *Deutsche Apotheker Zeitung* 124: 2639
- Krivoy N, Pavlotzky E, Chrubasik S, Eisenberg E, Brook G (2001) Effect of salicis cortex extract on human platelet aggregation. *Planta Med* 67: 209-212
- Laufer S, Greim C, Bertsche T (2002a) An in-vitro screening assay for the detection of inhibitors of proinflammatory cytokine synthesis: a useful tool for the development of new antiarthritic and disease modifying drugs. *Osteoarthritis Cartilage* 10: 961-967

- Laufer S, Striegel HG, Neher K, Zechmeister P, Donat C, et al. (1997) Synthesis and evaluation of a novel series of pyrrolizine derivatives as dual cyclooxygenase-1 and 5-lipoxygenase inhibitors. *Arch Pharm (Weinheim)* 330: 307-312
- Laufer S, Wagner GK (2002b) From imidazoles to pyrimidines: new inhibitors of cytokine release. *J Med Chem* 45: 2733-2740
- Laufer S, Zechmeister P, Klein T (1999) Development of an in-vitro test system for the evaluation of cyclooxygenase-2 inhibitors. *Inflamm Res* 48: 133-138
- Lautenschläger J, Mau W, Kohlmann T, Raspe HH, Struve F, et al. (1997) Vergleichende Evaluation einer deutschen Version des Health Assessment Questionnaires (HAQ) und des Funktionsfragebogens Hannover (FFbH). *Z Rheumatol* 56: 144-155
- Lee DM, Weinblatt ME (2001) Rheumatoid arthritis. *Lancet* 358: 903-911
- Leese PT, Hubbard RC, Karim A, Isakson PC, Yu SS, et al. (2000) Effects of celecoxib, a novel cyclooxygenase-2 inhibitor, on platelet function in healthy adults: a randomized, controlled trial. *J Clin Pharmacol* 40: 124-132
- Leslie GB (1978) A pharmacometric evaluation of nine Bio-Strath herbal remedies. *Medita* 10: 31-47
- Leval X, Julemont F, Delarge J, Pirotte B, Dogne JM (2002) New trends in dual 5-LOX/COX inhibition. *Curr Med Chem* 9: 941-962
- Lichtenstein DR, Syngal S, Wolfe MM (1995) Nonsteroidal antiinflammatory drugs and the gastrointestinal tract. The double-edged sword. *Arthritis Rheum* 38: 5-18
- Little C, Parsons T (2001) Herbal therapy for treating rheumatoid arthritis (Cochrane Review). *The Cochrane Library*, Issue 1: Oxford: Update Software
- Loew D, Möllerfeld J, Schrödter A, Puttkammer S, Kaszkin M (2001) Investigations on the pharmacokinetic properties of *Harpagophytum* extracts and their effects on eicosanoid biosynthesis in vitro and ex vivo. *Clin Pharmacol Ther* 69: 356-364.
- Lorenz HM, Kalden JR (1999) Zytokine und Mediatoren als therapeutische Ansatzpunkte. *Internist (Berl)* 40: 945-950
- Lüdtke R (2003) Biometrischer Bericht: Wirksamkeit und Verträglichkeit eines standardisierten Weidenrindenextraktes bei Patienten mit Rheumatoider Arthritis. Rainer Lüdtke, Karl und Veronica Carstens-Stiftung, 45276 Essen.
- Maclagan TJ (1876) The treatment of acute rheumatism by salicin. *Lancet* I: 342-343
- Mamdani M, Rochon PA, Juurlink DN, Kopp A, Anderson GM, et al. (2002) Observational study of upper gastrointestinal haemorrhage in elderly patients given selective cyclooxygenase-2 inhibitors or conventional non-steroidal anti-inflammatory drugs. *BMJ* 325: 624-629
- März RW, Kemper F (2002) Weidenrindenextrakt - Wirkungen und Wirksamkeit. Erkenntnisstand zu Pharmakologie, Toxikologie und Klinik. *Wien Med Wochenschr* 152: 354-359

- Matsumoto AK, Melian A, Mandel DR, McIlwain HH, Borenstein D, et al. (2002) A randomized, controlled, clinical trial of etoricoxib in the treatment of rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 29: 1623-1630
- Mayer RA, Mayer M (1949) Biologische Salicylattherapie mit Cortex salicis. *Pharmazie* 4: 77-81
- McAdam BF, Catella-Lawson F, Mardini IA, Kapoor S, Lawson JA, et al. (1999) Systemic biosynthesis of prostacyclin by cyclooxygenase (COX)-2: the human pharmacology of a selective inhibitor of COX-2. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96: 272-277
- Meier B (1988) Analytik, chromatographisches Verhalten und potentielle Wirksamkeit der Inhaltsstoffe salicylathaltiger Arzneipflanzen Mitteleuropas. Habilitationsschrift, Eidgenössische Technische Hochschule Zürich
- Meier B, Liebi M (1990) Salicinhaltige pflanzliche Arzneimittel - Überlegungen zu Wirksamkeit und Unbedenklichkeit. *Z Phytother* 11: 50-58
- Meier B, Sticher O, Bettschar A (1985) Weidenrinden-Qualität. *Deutsche Apotheker Zeitung* 125: 341-347
- Mierau R, Genth E (1998) Autoantikörper bei rheumatoider Arthritis. In: *Labor und Diagnose*. Hrsg.: Thomas L; TH-Books, Frankfurt/Main. 5. Auflage: S. 827-829
- Mills SY, Jacoby RK, Chacksfield M, Willoughby M (1996) Effect of a proprietary herbal medicine on the relief of chronic arthritic pain: a double-blind study. *Br J Rheumatol* 35: 874-878
- Mukherjee D, Nissen SE, Topol EJ (2001) Risk of cardiovascular events associated with selective COX-2 inhibitors. *JAMA* 286: 954-959
- Mur E, Hartig F, Eibl G, Schirmer M (2002) Randomized double blind trial of an extract from the pentacyclic alkaloid-chemotype of *Uncaria tomentosa* for the treatment of rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 29: 678-681
- Panara MR, Padovano R, Sciulli MG, Santini G, Renda G, et al. (1998) Effects of nimesulide on constitutive and inducible prostanoid biosynthesis in human beings. *Clin Pharmacol Ther* 63: 672-681
- Patrignani P, Panara MR, Greco A, Fusco O, Natoli C, et al. (1994) Biochemical and pharmacological characterization of the cyclooxygenase activity of human blood prostaglandin endoperoxide synthases. *J Pharmacol Exp Ther* 271: 1705-1712
- Patrignani P, Panara MR, Sciulli MG, Santini G, Renda G, et al. (1997) Differential inhibition of human prostaglandin endoperoxide synthase-1 and -2 by nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *J Physiol Pharmacol* 48: 623-631
- Patrono C, Ciabattini G, Pinca E, Pugliese F, Castrucci G, et al. (1980) Low dose aspirin and inhibition of thromboxane B2 production in healthy subjects. *Thromb Res* 17: 317-327
- Penning TD, Talley JJ, Bertenshaw SR, Carter JS, Collins PW, et al. (1997) Synthesis and biological evaluation of the 1,5-diarylpyrazole class of cyclooxygenase-2 inhibitors: identification of 4-[5-(4-methylphenyl)-3-(trifluoromethyl)-1H-pyrazol-1-yl]benzenesulfonamide (SC-58635, celecoxib). *J Med Chem* 40: 1347-1365

- Pentz R, Busse G, König R, Siegers C-P (1989) Bioverfügbarkeit von Salicylsäure und Coffein aus einem phyto-analgetischen Kombinationspräparat. *Z Phytother* 10: 92-96
- Pincus T, Ferraccioli G, Sokka T, Larsen A, Rau R, et al. (2002) Evidence from clinical trials and long-term observational studies that disease-modifying anti-rheumatic drugs slow radiographic progression in rheumatoid arthritis: updating a 1983 review. *Rheumatology (Oxford)* 41: 1346-1356
- Pincus T, Stein CM (1999) ACR 20: clinical or statistical significance? *Arthritis Rheum* 42: 1572-1576
- Rau R (2002) Inwieweit bestimmen Studienergebnisse therapeutisches Handeln in der Rheumatologie. *Z Rheumatol* 61: 504-515
- Riendeau D, Percival MD, Brideau C, Charleson S, Dube D, et al. (2001) Etoricoxib (MK-0663): preclinical profile and comparison with other agents that selectively inhibit cyclooxygenase-2. *J Pharmacol Exp Ther* 296: 558-566
- Rogler G, Andus T (1998) Cytokines in inflammatory bowel disease. *World J Surg* 22: 382-389
- Sander O, Herborn G, Rau R (1998) Ist H15 (Harzextrakt von *Boswellia serrata*, "Weihrauch") eine sinnvolle Ergänzung zur etablierten medikamentösen Therapie der chronischen Polyarthritits? - Ergebnisse einer doppelblinden Pilotstudie. *Z Rheumatol* 57: 11-16
- Sangha O (2000) Epidemiology of rheumatic diseases. *Rheumatology (Oxford)* 39 (Suppl 2): 3-12
- Scalbert A, Williamson G (2000) Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *J Nutr* 130(Suppl): 2073-2085
- Schaffner W (1997) Weidenrinde - Ein Antirheumatikum der modernen Phytotherapie? In: *Rheumatherapie mit Phytopharmaka*. Hrsg.: Chrubasik S, Wink M; Hippokrates, Stuttgart. S. 125-127
- Schmid B, Kötter I, Heide L (2001) Pharmacokinetics of salicin after oral administration of a standardised willow bark extract. *Eur J Clin Pharmacol* 57: 387-391
- Schmid B, Lüdtke R, Selbmann H-K, Kötter I, Tschirdewahn B, et al. (2000) Wirksamkeit und Verträglichkeit eines standardisierten Weidenrindenextraktes bei Arthrosepatienten: Randomisierte, placebo-kontrollierte Doppelblindstudie. *Z Rheumatol* 59: 314-320
- Schnitzer TJ, Truitt K, Fleischmann R, Dalgin P, Block J, et al. (1999) The safety profile, tolerability, and effective dose range of rofecoxib in the treatment of rheumatoid arthritis. Phase II Rofecoxib Rheumatoid Arthritis Study Group. *Clin Ther* 21: 1688-1702
- Schuna AA (2002) Rheumatoid Arthritis. In: *Pharmacotherapy - a pathophysiologic approach*. Hrsg.: Dipiro JT, Talbert RL, Yee GC et al; McGraw-Hill, New York. 5. Auflage: S. 1623-1637
- Silverstein FE, Faich G, Goldstein JL, Simon LS, Pincus T, et al. (2000) Gastrointestinal toxicity with celecoxib vs nonsteroidal anti-inflammatory drugs for osteoarthritis and rheumatoid arthritis: the CLASS study: A randomized controlled trial. Celecoxib Long-term Arthritis Safety Study. *JAMA* 284: 1247-1255

- Simon LS, Lanza FL, Lipsky PE, Hubbard RC, Talwalker S, et al. (1998) Preliminary study of the safety and efficacy of SC-58635, a novel cyclooxygenase 2 inhibitor: efficacy and safety in two placebo-controlled trials in osteoarthritis and rheumatoid arthritis, and studies of gastrointestinal and platelet effects. *Arthritis Rheum* 41: 1591-1602
- Simon LS, Weaver AL, Graham DY, Kivitz AJ, Lipsky PE, et al. (1999) Anti-inflammatory and upper gastrointestinal effects of celecoxib in rheumatoid arthritis: a randomized controlled trial. *JAMA* 282: 1921-1928
- Steinegger E, Hövel H (1972) Analytische und biologische Untersuchungen an Salicaceen-Wirkstoffen, insbesondere an Salicin. II. Biologische Untersuchungen. *Pharm Acta Helv* 47: 222-234
- Stone E (1763) An account of the success of the bark of the willow in the cure of agues. *Philosophical Transactions* 53: 195-200
- Strand V, Hochberg MC (2002) The risk of cardiovascular thrombotic events with selective cyclooxygenase-2 inhibitors. *Arthritis Rheum* 47: 349-355
- Symmons D, Harrison B (2000) Early inflammatory polyarthritis: results from the Norfolk Arthritis Register with a review of the literature. I. Risk factors for the development of inflammatory polyarthritis and rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 39: 835-843
- Tao X, Younger J, Fan FZ, Wang B, Lipsky PE (2002) Benefit of an extract of *Tripterygium Wilfordii* Hook F in patients with rheumatoid arthritis: a double-blind, placebo-controlled study. *Arthritis Rheum* 46: 1735-1743
- Tao XL, Sun Y, Dong Y, Xiao YL, Hu DW, et al. (1989) A prospective, controlled, double-blind, cross-over study of *tripterygium wilfordii* hook F in treatment of rheumatoid arthritis. *Chin Med J (Engl)* 102: 327-332
- Tegeder I, Lötsch J, Krebs S, Muth-Selbach U, Brune K, et al. (1999) Comparison of inhibitory effects of meloxicam and diclofenac on human thromboxane biosynthesis after single doses and at steady state. *Clin Pharmacol Ther* 65: 533-544
- Tipler B, Syrovets T, Loew D, Simmet T (1996) *Harpagophytum procumbens*: Wirkung von Extrakten auf die Eicosanoidbiosynthese in Ionophor A23187-stimuliertem menschlichem Vollblut. In: *Phytopharmaka: Forschung und klinische Anwendung*. Hrsg.: Loew D, Rietbrock N; Steinkopff Verlag, Darmstadt. II S. 95-100
- Van Hecken A, Schwartz JI, Depré M, De Lepeleire I, Dallob A, et al. (2000) Comparative inhibitory activity of rofecoxib, meloxicam, diclofenac, ibuprofen, and naproxen on COX-2 versus COX-1 in healthy volunteers. *J Clin Pharmacol* 40: 1109-1120
- Vane JR (1971) Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nat New Biol* 231: 232-235
- Volk H-D, Keyßer G, Burmester GR (2000) Zytokine und Zytokin-Rezeptoren. In: *Labor und Diagnose*. Hrsg.: Thomas L; Th-Books, Frankfurt/Main. 5. Auflage: S. 782-791
- Wagner H, Wiesenauer M (1995) *Phytotherapie*. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart

- Wagner I (2003) Abschlussbericht: Wirksamkeit und Verträglichkeit eines standardisierten Weidenrindenextraktes bei Patienten mit Rheumatoider Arthritis. Lutz Heide, Pharmazeutisches Institut, Universität Tübingen, 72076 Tübingen
- Warner TD, Giuliano F, Vojnovic I, Bukasa A, Mitchell JA, et al. (1999) Nonsteroid drug selectivities for cyclo-oxygenase-1 rather than cyclo-oxygenase-2 are associated with human gastrointestinal toxicity: a full in vitro analysis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96: 7563-7568
- Weiß RF, Fintelmann V (1999) Lehrbuch der Phytotherapie. Hippokrates, Stuttgart. 10. Auflage
- Weyers W (1992) Phytotherapie in der Behandlung extraartikulärer Rheumaerkrankungen. *Therapiewoche Schweiz* 8: 832-838
- Witter J (2000) Celebrex Capsules (Celecoxib). Medical Officer Review. http://www.fda.gov/ohrms/dockets/ac/01/briefing/3677b1_03_med.pdf
- Wolfe MM, Lichtenstein DR, Singh G (1999) Gastrointestinal toxicity of nonsteroidal antiinflammatory drugs. *N Engl J Med* 340: 1888-1899
- Wright JM, Perry TL, Bassett KL, Chambers GK (2001) Reporting of 6-month vs 12-month data in a clinical trial of celecoxib. *JAMA* 286: 2398-2400
- Xie WL, Chipman JG, Robertson DL, Erikson RL, Simmons DL (1991) Expression of a mitogen-responsive gene encoding prostaglandin synthase is regulated by mRNA splicing. *Proc Natl Acad Sci U S A* 88: 2692-2696
- Zink A, Huscher D, Thiele K, Otto S, Ziemer S, et al. (2002) Rheumatologische Kerndokumentation der Regionalen Kooperativen Rheumazentren in den Jahren 1999 und 2000. Epi-Report, Berlin. Nr. 16
- Zink A, Mau W, Schneider M (2001) Epidemiologische und sozialmedizinische Aspekte entzündlich-rheumatischer Systemerkrankungen. *Internist* 42: 211-216, 219-222

7 Tabellenanhang

Patientenliste

Tabelle 34: Randomisierte Patienten einschließlich der Zuteilung zur Per-protocol-Population

Random-Nr.	Therapie	Prüfzentrum	Per-protocol-Population
400	Weidenrinde	Tübingen	ja
401	Weidenrinde	Tübingen	ja
402	Placebo	Tübingen	ja
403	Placebo	Tübingen	ja
404	Weidenrinde	Tübingen	ja
405	Placebo	Tübingen	ja
406	Placebo	Tübingen	ja
407	Weidenrinde	Tübingen	ja
408	Weidenrinde	Tübingen	ja
409	Weidenrinde	Tübingen	nein
410	Placebo	Tübingen	ja
411	Placebo	Tübingen	ja
448	Weidenrinde	Stuttgart	nein
449	Placebo	Stuttgart	ja
500	Placebo	Filderstadt	ja
501	Weidenrinde	Filderstadt	ja
548	Placebo	Heidelberg	ja
549	Weidenrinde	Heidelberg	nein
550	Placebo	Heidelberg	ja
551	Weidenrinde	Heidelberg	nein
552	Weidenrinde	Heidelberg	nein
553	Weidenrinde	Heidelberg	nein
554	Placebo	Heidelberg	nein
555	Placebo	Heidelberg	ja
556	Placebo	Heidelberg	nein
557	Weidenrinde	Heidelberg	ja

Schmerz-VAS

Tabelle 35: Absolutwerte der Schmerz-VAS für die Intention-to-treat-Population

Therapie	Visite Tag		Schmerzen (cm) (ITT)					
			Anzahl	Mittelwert	Std.-abw.	Median	Min.	Max.
Weidenrinde	1	-7	12	5,1	1,5	5,2	2,6	7,7
	2	0	13	5,5	2,0	5,5	2,0	7,7
	3	14	13	4,9	2,6	5,3	0,9	8,8
	4	28	13	5,2	2,4	6,1	0,4	8,2
	5	42	13	4,7	2,4	4,7	1,3	8,2
Placebo	1	-7	12	4,4	1,8	4,7	1,4	7,4
	2	0	13	4,5	2,5	5,1	0,3	7,4
	3	14	13	4,7	2,8	4,7	0,7	8,5
	4	28	13	4,8	3,1	4,2	0,3	9,2
	5	42	13	4,3	3,0	4,5	0,3	9,2

Tabelle 36: Veränderung der Schmerzwerte im Vergleich zum Baseline-Wert (Intention-to-treat-Population)

Therapie	Visite Tag		Schmerzveränderung im Vergleich zur Baseline (cm) (ITT)					
			Anzahl	Mittelwert	Std.-abw.	Median	Min.	Max.
Weidenrinde	3	14	13	-0,6	1,6	-0,6	-4,0	2,0
	4	28	13	-0,3	2,7	-0,2	-5,1	5,0
	5	42	13	-0,8	2,4	-0,7	-5,3	5,0
Placebo	3	14	13	0,2	1,7	0,4	-4,2	2,2
	4	28	13	0,2	2,3	0,6	-4,2	3,9
	5	42	13	-0,2	2,7	-0,2	-6,4	2,9

Tabelle 37: Schmerz-VAS-Werte (in cm) der einzelnen Patienten. Angegeben sind die Werte bei Visite 2 (Baseline) und Visite 5 (Studienende) sowie die Veränderung von Visite 2 zu Visite 5.

Weidenrinde					Placebo				
Random-Nr.	Prüfzentrum	V2 Tag 0	V5 Tag 42	V5-V2	Random-Nr.	Prüfzentrum	V2 Tag 0	V5 Tag 42	V5-V2
400	Tübingen	5,0	4,7	-0,3	402	Tübingen	1,9	1,7	-0,2
401	Tübingen	2,0	1,3	-0,7	403	Tübingen	6,3	4,5	-1,8
404	Tübingen	4,7	2,1	-2,6	405	Tübingen	7,4	7,0	-0,4
407	Tübingen	5,5	3,4	-2,1	406	Tübingen	4,6	2,2	-2,4
408	Tübingen	7,0	6,3	-0,7	410	Tübingen	1,6	4,5	2,9
409	Tübingen	7,4	6,3	-1,1	411	Tübingen	2,5	5,3	2,8
448	Stuttgart	7,7	7,6	-0,1	449	Stuttgart	6,6	9,2	2,6
501	Filderstadt	7,2	8,2	1,0	500	Filderstadt	6,7	0,3	-6,4
549	Heidelberg	5,5	5,5	0,0	548	Heidelberg	2,4	1,9	-0,5
551	Heidelberg	6,8	1,5	-5,3	550	Heidelberg	7,1	8,4	1,3
552	Heidelberg	2,3	7,3	5,0	554	Heidelberg	0,3	0,5	0,2
553	Heidelberg	7,2	4,4	-2,8	555	Heidelberg	6,5	3,5	-3,0
557	Heidelberg	3,1	2,6	-0,5	556	Heidelberg	5,1	7,0	1,9
	Mittelwert	5,5	4,7	-0,8		Mittelwert	4,5	4,3	-0,2

Tabelle 38: Absolutwerte der Schmerz-VAS für die Per-protocol-Population

Therapie	Visite Tag		Schmerzen (cm) (PP)					
			Anzahl	Mittelwert	Std.-abw.	Median	Min.	Max.
Weidenrinde	1	-7	7	4,3	1,2	4,1	2,6	6,0
	2	0	7	4,9	1,9	5,0	2,0	7,2
	3	14	7	4,0	2,7	3,4	0,9	8,2
	4	28	7	4,5	2,7	4,8	0,4	8,2
	5	42	7	4,1	2,5	3,4	1,3	8,2
Placebo	1	-7	11	4,4	1,9	4,6	1,4	7,4
	2	0	11	4,9	2,3	6,3	1,6	7,4
	3	14	11	4,9	2,6	4,7	1,7	8,5
	4	28	11	5,0	3,0	4,2	1,0	9,2
	5	42	11	4,4	2,9	4,5	0,3	9,2

Tabelle 39: Veränderung der Schmerzwerte im Vergleich zum Baseline-Wert (Per-protocol-Population)

Therapie	Visite Tag		Schmerzveränderung im Vergleich zur Baseline (cm) (PP)					
			Anzahl	Mittelwert	Std.-abw.	Median	Min.	Max.
Weidenrinde	3	14	7	-0,9	1,3	-1,1	-2,7	1,0
	4	28	7	-0,5	2,7	-0,2	-5,1	3,0
	5	42	7	-0,8	1,2	-0,7	-2,6	1,0
Placebo	3	14	11	0,0	1,8	0,0	-4,2	2,2
	4	28	11	0,1	2,5	0,6	-4,2	3,9
	5	42	11	-0,5	2,9	-0,4	-6,4	2,9

Druckschmerzhaftes Gelenke

Tabelle 40: Absolutwerte der Anzahl druckschmerzhafter Gelenke für die Intention-to-treat-Population

Therapie	Visite Tag		Anzahl druckschmerzhafter Gelenke (ITT)					
			Anzahl	Mittelwert	Std.-abw.	Median	Min.	Max.
Weidenrinde	1	-7	12	9,9	7,8	9,0	0,0	26,0
	2	0	13	11,0	6,8	11,0	0,0	22,0
	3	14	13	8,6	6,8	6,0	0,0	22,0
	4	28	13	9,2	7,5	9,0	1,0	22,0
	5	42	13	10,0	7,0	9,0	0,0	22,0
Placebo	1	-7	12	6,8	6,4	4,5	0,0	19,0
	2	0	13	7,9	5,9	8,0	0,0	19,0
	3	14	13	7,2	4,8	6,0	0,0	15,0
	4	28	13	6,5	4,4	6,0	0,0	13,0
	5	42	13	5,8	4,7	5,0	0,0	13,0

Tabelle 41: Veränderung der Anzahl druckschmerzhafter Gelenke im Vergleich zum Baseline-Wert (Intention-to-treat-Population)

Therapie	Visite Tag		Veränderung der Anzahl druckschmerzhafter Gelenke im Vergleich zur Baseline (ITT)					
			Anzahl	Mittelwert	Std.-abw.	Median	Min.	Max.
Weidenrinde	3	14	13	-2,4	6,4	0,0	-21,0	2,0
	4	28	13	-1,8	7,0	0,0	-21,0	7,0
	5	42	13	-1,0	6,7	1,0	-21,0	7,0
Placebo	3	14	13	-0,7	2,6	0,0	-7,0	4,0
	4	28	13	-1,4	3,1	-1,0	-7,0	3,0
	5	42	13	-2,1	2,8	-1,0	-7,0	2,0

Geschwollene Gelenke**Tabelle 42: Absolutwerte der Anzahl geschwollener Gelenke für die Intention-to-treat-Population**

Therapie	Visite Tag		Anzahl geschwollener Gelenke (ITT)					
			Anzahl	Mittelwert	Std.-abw.	Median	Min.	Max.
Weidenrinde	1	-7	12	8,3	8,2	5,0	0,0	23,0
	2	0	13	8,2	7,6	5,0	0,0	23,0
	3	14	13	7,7	6,9	5,0	0,0	23,0
	4	28	13	7,4	7,7	5,0	0,0	23,0
	5	42	13	7,5	7,9	5,0	0,0	23,0
Placebo	1	-7	12	5,3	5,6	3,5	0,0	19,0
	2	0	13	6,2	5,4	5,0	0,0	19,0
	3	14	13	5,8	4,4	5,0	0,0	12,0
	4	28	13	5,2	4,4	4,0	0,0	12,0
	5	42	13	5,0	4,4	4,0	0,0	12,0

Tabelle 43: Veränderung der Anzahl geschwollener Gelenke im Vergleich zum Baseline-Wert (Intention-to-treat-Population)

Therapie	Visite Tag		Veränderung der Anzahl geschwollener Gelenke im Vergleich zur Baseline (ITT)					
			Anzahl	Mittelwert	Std.-abw.	Median	Min.	Max.
Weidenrinde	3	14	13	-0,5	6,2	0,0	-18,0	12,0
	4	28	13	-0,8	7,0	0,0	-18,0	12,0
	5	42	13	-0,7	7,4	0,0	-18,0	12,0
Placebo	3	14	13	-0,4	2,4	0,0	-8,0	2,0
	4	28	13	-1,0	3,2	0,0	-8,0	2,0
	5	42	13	-1,2	3,2	0,0	-8,0	2,0

Health Assessment Questionnaire

Tabelle 44: Absolutwerte des HAQ Disability Index für die Intention-to-treat-Population. Mögliche Scorepunkte reichen von 0-3, wobei höhere Werte eine schlechtere körperliche Funktionsfähigkeit bedeuten.

Therapie	Visite Tag		HAQ Disability Index (ITT)					
			Anzahl	Mittelwert	Std.-abw.	Median	Min.	Max.
Weidenrinde	2	0	13	1,2	0,6	1,4	0,1	2,1
	3	14	13	1,2	0,6	1,1	0,0	2,5
	4	28	13	1,2	0,6	1,4	0,0	2,5
	5	42	13	1,2	0,6	1,4	0,0	2,5
Placebo	2	0	12	0,9	0,6	0,8	0,0	2,0
	3	14	13	0,9	0,6	0,9	0,0	1,9
	4	28	13	0,8	0,6	0,8	0,0	1,9
	5	42	13	0,9	0,6	0,9	0,0	2,1

Tabelle 45: Veränderung des HAQ Disability Index im Vergleich zum Baseline-Wert (Intention-to-treat-Population)

Therapie	Visite Tag		Veränderung des HAQ Disability Index im Vergleich zur Baseline (ITT)					
			Anzahl	Mittelwert	Std.-abw.	Median	Min.	Max.
Weidenrinde	3	14	13	-0,0	0,2	0,0	-0,6	0,4
	4	28	13	0,0	0,3	0,0	-0,5	0,5
	5	42	13	0,0	0,3	0,0	-0,4	0,5
Placebo	3	14	13	0,0	0,2	0,0	-0,3	0,5
	4	28	13	0,0	0,2	0,0	-0,4	0,5
	5	42	13	0,1	0,2	0,1	-0,3	0,5

Morgensteifigkeit

Tabelle 46: Absolutwerte der Morgensteifigkeit (10 cm-VAS) für die Intention-to-treat-Population

Therapie	Visite Tag		Morgensteifigkeit (cm) (ITT)					
			Anzahl	Mittelwert	Std.-abw.	Median	Min.	Max.
Weidenrinde	1	-7	12	4,2	2,7	4,5	0,4	9,2
	2	0	13	5,0	2,9	6,3	0,3	9,0
	3	14	13	4,2	2,8	4,6	0,4	8,1
	4	28	13	4,7	2,5	5,0	0,6	7,8
	5	42	13	3,9	2,6	3,4	0,1	7,8
Placebo	1	-7	12	4,5	2,9	6,0	0,2	7,8
	2	0	13	4,5	3,2	5,5	0,1	8,3
	3	14	13	4,5	3,4	4,3	0,2	9,4
	4	28	13	3,9	3,2	3,1	0,0	9,3
	5	42	13	4,2	3,1	3,2	0,2	9,3

Tabelle 47: Veränderung der Morgensteifigkeitswerte (10 cm-VAS) im Vergleich zum Baseline-Wert (Intention-to-treat-Population)

Therapie	Visite Tag		Veränderung der Morgensteifigkeit im Vergleich zur Baseline (cm) (ITT)					
			Anzahl	Mittelwert	Std.-abw.	Median	Min.	Max.
Weidenrinde	3	14	13	-0,8	1,7	-0,3	-4,4	1,8
	4	28	13	-0,3	2,2	0,0	-4,3	3,8
	5	42	13	-1,1	2,6	-0,2	-6,7	3,8
Placebo	3	14	13	0,0	2,5	0,3	-4,8	4,9
	4	28	13	-0,6	3,4	0,2	-6,4	4,9
	5	42	13	-0,3	3,6	0,2	-5,6	5,0

Gesamturteil Patient

Tabelle 48: Verlauf der Patientenurteile über den Therapieerfolg (Beurteilung der Krankheitsaktivität im Vergleich zur Baseline) für die Intention-to-treat-Population. 10 cm-VAS: 0 cm = „viel besser“, 5 cm = „unverändert“, 10 cm = „viel schlechter“

Therapie	Visite Tag		Patientenurteil zur Wirksamkeit (cm) (ITT)					
			Anzahl	Mittelwert	Std.-abw.	Median	Min.	Max.
Weidenrinde	3	14	12	4,6	1,4	4,9	1,3	7,3
	4	28	12	4,6	1,7	4,9	2,0	7,3
	5	42	12	5,3	1,7	5,0	2,5	8,4
Placebo	3	14	13	5,6	2,0	4,8	3,1	9,6
	4	28	13	5,4	2,5	4,9	1,9	9,4
	5	42	13	5,2	2,5	4,4	2,1	9,4

Gesamturteil Arzt

Tabelle 49: Abschließendes Gesamturteil des Arztes über den Therapieerfolg (Beurteilung der Krankheitsaktivität im Vergleich zur Baseline) für die Intention-to-treat-Population. 10 cm-VAS: 0 cm = „viel besser“, 5 cm = „unverändert“, 10 cm = „viel schlechter“

Therapie	Visite Tag		Arzturteil zur Wirksamkeit (cm) (ITT)					
			Anzahl	Mittelwert	Std.-abw.	Median	Min.	Max.
Weidenrinde	5	42	12	5,8	2,3	5,4	2,0	9,7
Placebo	5	42	13	4,8	1,6	5,0	1,6	8,2

SF-36

Tabelle 50: Absolutwerte der SF-36 Scores für die Intention-to-treat-Population. Höhere Werte bedeuten eine höhere Lebensqualität.

Skala	Therapie	Visite	Tag	Score (0-100) (ITT)					
				Anzahl	Mittelwert	Std.-abw.	Median	Min.	Max.
Gesundheits- wahrnehmung	Weidenrinde	2	0	13	48,3	15,4	47,0	25,0	82,0
		5	42	13	42,4	14,4	45,0	20,0	67,0
	Placebo	2	0	13	57,2	17,3	65,0	25,0	77,0
		5	42	13	50,7	18,6	55,0	27,0	82,0
Schmerz	Weidenrinde	2	0	13	37,7	14,8	41,0	22,0	62,0
		5	42	13	41,3	12,9	41,0	22,0	62,0
	Placebo	2	0	13	51,2	15,5	52,0	22,0	84,0
		5	42	13	48,1	19,6	41,0	22,0	84,0
Vitalität	Weidenrinde	2	0	13	48,5	9,9	45,0	35,0	65,0
		5	42	13	49,2	17,4	50,0	25,0	80,0
	Placebo	2	0	11	58,0	12,8	55,0	40,0	75,0
		5	42	13	53,8	17,5	50,0	20,0	85,0
Emotionale Rollenfunktion	Weidenrinde	2	0	12	72,2	44,6	100,0	0,0	100,0
		5	42	13	84,6	37,6	100,0	0,0	100,0
	Placebo	2	0	13	87,2	29,0	100,0	0,0	100,0
		5	42	13	68,7	44,5	100,0	0,0	100,0
Körperliche Funktion	Weidenrinde	2	0	13	48,5	18,1	45,0	20,0	75,0
		5	42	13	49,2	22,0	45,0	25,0	90,0
	Placebo	2	0	13	68,3	22,1	70,0	38,9	95,0
		5	42	13	67,8	23,7	80,0	25,0	100,0
Körperliche Rollenfunktion	Weidenrinde	2	0	12	33,3	41,7	12,5	0,0	100,0
		5	42	13	51,9	48,4	50,0	0,0	100,0
	Placebo	2	0	12	75,0	38,4	100,0	0,0	100,0
		5	42	13	58,5	42,7	75,0	0,0	100,0
Psychisches Wohlbefinden	Weidenrinde	2	0	13	68,9	14,7	68,0	48,0	92,0
		5	42	13	64,6	14,9	68,0	40,0	88,0
	Placebo	2	0	11	75,5	12,6	76,0	52,0	96,0
		5	42	13	67,2	15,1	72,0	44,0	96,0
Soziale Funktion	Weidenrinde	2	0	13	74,0	18,7	75,0	37,5	100,0
		5	42	13	74,0	18,0	75,0	50,0	100,0
	Placebo	2	0	13	91,3	13,9	100,0	62,5	100,0
		5	42	13	89,4	16,0	100,0	50,0	100,0
Körperlicher Summenscore	Weidenrinde	2	0	12	30,8	7,4	29,7	19,3	47,3
		5	42	13	33,1	6,8	32,5	21,6	46,5
	Placebo	2	0	11	41,5	9,2	45,4	21,9	54,5
		5	42	13	39,7	10,2	40,0	20,4	54,1
Psychischer Summenscore	Weidenrinde	2	0	12	52,2	11,1	55,7	34,4	65,1
		5	42	13	51,5	9,2	53,6	34,5	64,2
	Placebo	2	0	11	54,4	8,5	55,0	32,0	63,3
		5	42	13	50,0	9,0	50,5	32,3	63,8
Summenscore	Weidenrinde	2	0	12	53,6	10,9	54,6	36,5	71,5
		5	42	13	53,6	13,0	54,6	29,2	81,4
	Placebo	2	0	11	68,0	11,4	72,0	49,2	82,5
		5	42	13	61,8	14,6	66,5	41,1	84,4

Tabelle 51: Veränderung der SF-36-Werte von Baseline (Visite 2, Tag 0) zu Studienende (Visite 5, Tag 42) für die Intention-to-treat-Population. Positive Werte bedeuten eine Verbesserung, negative Werte eine Verschlechterung.

Skala	Therapie	Veränderung des Score (Studienende vs Baseline) (0-100) (ITT)					
		Anzahl	Mittelwert	Std.-abw.	Median	Min.	Max.
Gesundheits- wahrnehmung	Weidenrinde	13	-5,9	13,5	0,0	-37,0	15,0
	Placebo	13	-6,4	11,4	-7,6	-25,0	17,0
Schmerz	Weidenrinde	13	3,6	16,2	0,0	-21,0	40,0
	Placebo	13	-3,0	14,9	0,0	-31,0	22,0
Vitalität	Weidenrinde	13	0,8	13,8	0,0	-25,0	25,0
	Placebo	13	-2,6	8,9	0,0	-25,0	10,0
Emotionale Rollenfunktion	Weidenrinde	13	17,9	37,6	0,0	0,0	100,0
	Placebo	13	-18,5	32,6	0,0	-100,0	0,0
Körperliche Funktion	Weidenrinde	13	0,8	24,3	0,0	-50,0	50,0
	Placebo	13	-0,5	11,9	0,0	-25,0	15,0
Körperliche Rollenfunktion	Weidenrinde	13	21,2	33,6	0,0	0,0	100,0
	Placebo	13	-10,8	33,7	0,0	-100,0	25,0
Psychisches Wohlbefinden	Weidenrinde	13	-4,3	16,6	-4,0	-36,0	20,0
	Placebo	13	-6,5	10,8	-4,0	-32,0	9,3
Soziale Funktion	Weidenrinde	13	0,0	14,4	0,0	-25,0	25,0
	Placebo	13	-1,9	16,0	0,0	-25,0	37,5
Körperlicher Summenscore	Weidenrinde	13	2,6	5,4	0,7	-5,1	11,7
	Placebo	13	-1,3	5,8	0,0	-13,1	11,2
Psychischer Summenscore	Weidenrinde	13	0,6	9,0	0,0	-19,3	14,9
	Placebo	13	-3,3	4,7	-1,0	-13,7	2,7
Summenscore	Weidenrinde	13	1,9	8,9	0,0	-7,6	20,8
	Placebo	13	-4,4	7,1	-1,8	-20,9	4,2

Akutphasereaktanten BSG und CRP**Tabelle 52: Absolutwerte der Akutphasereaktanten BSG und CRP für die Intention-to-treat-Population**

Akutphase- reaktant	Therapie	Visite	Tag	Anzahl	Mittelwert	Std.-abw.	Median	Min.	Max.
BSG (mm)	Weidenrinde	1	-7	12	25,6	15,4	23,0	4,0	53,0
		2	0	13	27,8	19,4	22,0	4,0	72,0
		5	42	13	26,5	19,9	17,0	8,0	72,0
	Placebo	1	-7	11	21,5	12,5	20,0	8,0	40,0
		2	0	12	21,0	10,2	20,5	8,0	36,0
		5	42	13	25,8	14,3	22,0	4,0	56,0
CRP (mg/dl)	Weidenrinde	1	-7	12	2,4	2,1	1,8	0,1	7,6
		2	0	13	1,9	1,4	2,0	0,0	4,1
		5	42	13	1,7	1,6	1,3	0,0	4,7
	Placebo	1	-7	11	1,8	1,5	1,7	0,0	3,8
		2	0	13	2,0	1,7	1,5	0,0	5,0
		5	42	13	2,5	1,9	2,3	0,0	6,0

Tabelle 53: Veränderung der Akutphasereaktanten BSG und CRP von Baseline (Visite 2, Tag 0) zu Studienende (Visite 5, Tag 42) für die Intention-to-treat-Population

Akutphase- reaktant	Therapie	Veränderung von BSG und CRP Studienende vs Baseline (ITT)					
		Anzahl	Mittelwert	Std.-abw.	Median	Min.	Max.
BSG (mm)	Weidenrinde	13	-1,3	5,0	-1,0	-8,0	8,0
	Placebo	13	4,0	12,3	0,0	-14,0	28,4
CRP (mg/dl)	Weidenrinde	13	-0,2	1,4	0,0	-3,8	1,6
	Placebo	13	0,5	1,7	0,3	-2,6	4,3

Danksagung

Mein ganz besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Professor Dr. Lutz Heide, der mich fachlich und menschlich in allen Phasen dieser Arbeit hervorragend unterstützt hat.

Herrn Professor Dr. Christoph H. Gleiter danke ich für die Übernahme des Zweitgutachtens und für die ausgesprochen konstruktive Zusammenarbeit bei der Planung und Durchführung der pharmakologischen Probandenstudie.

Ferner danke ich Frau Dr. Gitta Walz für die Betreuung der Probanden der pharmakologischen Studie. Ich bedanke mich bei Herrn Professor Dr. Stefan Laufer und Frau Dr. Cornelia Greim für die Einarbeitung in die pharmakologischen Methoden und die Hilfe und hervorragende Zusammenarbeit bei den pharmakologischen Untersuchungen.

Ich danke allen Personen, die wesentlich zum Gelingen der klinischen Studie beigetragen haben: Frau Dr. Ina Kötter als Leiterin der klinischen Prüfung für die Betreuung der Studie aus medizinischer Sicht, Herrn Rainer Lüdtker für die biometrische Betreuung und die statistische Auswertung der Studie, Frau Claudia Lohmüller, Herrn PD Dr. Bernhard Heilig, Frau Dr. Doris Lassak-Siedl, Frau Patricia Kress, Herrn Hartmut Rapp, Herrn Markus Müller, Frau Dr. Constanze Richter und Frau Sabine Fischer für die Untersuchung der Studienpatienten und die umfangreiche Dokumentation, Frau Siliva Koch und Frau Sylke Wilken und ihren Mitarbeitern für die Laboruntersuchungen im Rahmen der Studie, Frau Dr. Christiane Hartmann und Herrn Dr. Sven Jacki für das Vorscreening von Studienpatienten, Herrn PD Dr. Ilhan Günaydin und Herrn Dr. Bernhard Schmid für die wissenschaftliche Beratung bei der Entwicklung des Studienprotokolls. Weiterhin bedanke ich mich bei der Firma Robugen GmbH in Esslingen, insbesondere bei Herrn Dr. Bernd Hempel, für die ausgezeichnete Zusammenarbeit.

Mein besonderer Dank gilt Frau Claudia Biegert und Frau Dr. Katja Taxis für die fortwährende Unterstützung, die konstruktiven Diskussionen und das Gegenlesen von Teilen dieser Arbeit. Herrn Thomas Luft danke ich für seine Hilfe in allen Computerfragen. Ich bedanke mich bei Frau Lörcher für ihre freundliche Unterstützung bei allen organisatorischen Angelegenheiten und bei Frau Bauer für ihre stete Hilfsbereitschaft. Mein herzlicher Dank gilt meinen Kolleginnen und Kollegen im Arbeitskreis für die freundschaftliche Atmosphäre und den guten Zusammenhalt: Alessandra, Anja, Anne, Christine, Daniela, Elisabeth, Emmanuel, Florence, Herrn Dr. Mechler, Herrn Trefzer, Hui, Inge, Karin, Lucy, Manuel, Marion, Shuming, Susanne, Thomas, Ute und Yvonne.

Ganz besonders danke ich Robert, meinen Eltern und meiner Schwester, die mich auch über diese Arbeit hinaus begleitet und rückhaltlos unterstützt haben.

Akademische Lehrer

Ich danke meinen akademischen Lehrerinnen und Lehrern:

In Tübingen:

Herrn Prof. Dr. H.P.T. Ammon

Frau Prof. Dr. G. Drews

Herrn Prof. Dr. L. Heide

Herrn Prof. Dr. K.-A. Kovar

Herrn Prof. Dr. P.C. Schmidt

Herrn Prof. Dr. J.E. Schultz

Herrn Prof. Dr. M. Wahl

In Seattle:

Herrn M. Gibaldi, Ph.D.

Herrn S. Nelson, Ph.D.

Frau J.B. Plein, Ph.D.

Frau T. O'Sullivan, Pharm.D.