

2. Ergebnisse und Diskussion

Sonnentau (*Drosera* spp.) ist eine pharmakologisch interessante Pflanzengattung, die seit Jahrhunderten als Arzneipflanze verwendet wird. In Europa fand insbesondere *D. rotundifolia* Anwendung in der Therapie obstruktiver Atemwegserkrankungen^[56]. Die antiinflammatorischen und spasmolytischen Wirkungen von *D. rotundifolia* sind in wissenschaftlichen Studien belegt^{[64], [65], [66]}. Dennoch sind seit Anfang der 2000er Jahre von ehemals 15 Phytopharmaka, die Droserae herba enthielten, nur noch drei Präparate in Deutschland zugelassen^[67]. Grund dafür ist die erschwerte Beschaffung von ausreichend Pflanzenmaterial, bedingt durch rückläufige Bestände aufgrund von Wildsammlungen sowie der Zerstörung des Lebensraums durch die Trockenlegung von Moorflächen. Eine neue Perspektive bietet der erfolgreiche Anbau in Form von Paludikultur. Der Begriff Paludi leitet sich vom lateinischen Wort „Palus“ für Sumpf oder Morast ab. Paludikultur beschreibt die landwirtschaftliche Nutzung von morastigen Flächen^[68]. Dabei zeigte sich, dass die Kultivierung von Sonnentau zusammen mit *Sphagnum*-Moosen vielversprechend ist^[56]. Derzeit fehlen jedoch verbindliche Qualitätsstandards für Identität, Reinheit und Gehalt, um die Qualität, Sicherheit und Wirksamkeit von Droserae herba in der pharmazeutischen Anwendung sicherzustellen. Daher lag ein Schwerpunkt dieser Arbeit auf der Entwicklung einheitlicher Qualitätsparameter, die eine kontinuierliche Kontrolle und Sicherstellung einer gleichbleibenden Qualität von Droserae herba als Ausgangsmaterial für Phytopharmaka ermöglichen. Zudem erfordert die moderne Phytotherapie hohe Anforderungen an pflanzliche Arzneimittel, die eine wissenschaftlich belegte Wirksamkeit und Sicherheit nachweisen müssen^[69]. In diesem Zusammenhang wurden *in vitro* Untersuchungen zur antibakteriellen und antiinflammatorischen Wirkung, sowie erste Sicherheitsprüfungen mittels Zytotoxizitätstestungen durchgeführt. Für die mikrobiologischen Untersuchungen wurden neben klassischen Atemwegskeimen auch weitere Pathogene getestet. Zudem lag der Fokus auf der biofilmhemmenden Wirkung gegen drei ESBL-produzierende *E. coli*-Stämme, was eine Erweiterung des Indikationsgebiets ermöglichen könnte. Zur Identifizierung der wirksamkeitsbestimmenden Inhaltsstoffe der biofilmhemmenden Wirkung fanden bioaktivitätsgeführte Testungen statt, bei denen Stoffgruppen in Fraktionen angereichert und Einzelsubstanzen isoliert wurden. Metabolom- und Proteom-Untersuchungen ergänzten die Analyse, um Anhaltspunkte über den zugrunde liegenden Wirkmechanismen zu erhalten.

2.1 Entwicklung von Methoden und Parametern für die Qualitätskontrolle von Droserae herba

Im Rahmen einer dieser Arbeit zugrundeliegenden Veröffentlichung wurde ein Monographie-Entwurf zur Qualitätskontrolle von Droserae herba nach den Vorgaben der EDQM (European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare) – Richtlinie „Guide for the elaboration of monographs on Herbal Drugs and Herbal Drug Preparations“ entwickelt^[70] (**Publikation A** und Anhang). Gemäß dieser Richtlinie beginnt die Monographie mit einer präzisen Definition der Droge.

In dem erarbeiteten Monographie-Entwurf wird *D. rotundifolia* als alleinige Quelle spezifiziert, wobei sowohl oberirdische als auch unterirdische Pflanzenteile berücksichtigt werden.

Die Möglichkeit des nachhaltigen Anbaus, die nachgewiesene biofilmhemmende Aktivität sowie die Konzentrationen der Flavonoide und Naphthochinone waren ausschlaggebend für die Ausrichtung der Qualitätsparameter auf *D. rotundifolia*. Von den weiteren europäischen Arten, *D. intermedia* und *D. anglica*, weist *D. anglica* zwar ein ähnliches Inhaltsstoffprofil wie *D. rotundifolia* auf, konnte jedoch aufgrund ihres limitierten Vorkommens nicht berücksichtigt werden. Darüber hinaus zeigte die quantitative Analyse des Flavonidgehaltes von *D. intermedia* mit 2,0 - 2,5 %, dass *D. rotundifolia* einen etwa doppelt so hohen Gehalt aufweist (3,5 - 5,4 %) (**Publikation B**). Besonders relevant sind hierbei 2"-O-Galloylhyperosid, Hyperosid und Quercetin, die maßgeblich zur biofilmhemmenden Aktivität beitragen. Obwohl die Ethanolextrakte beider Spezies eine vergleichbare minimale biofilminhibitorische Konzentration von 25 - 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ zeigen, beruht die biofilmhemmende Wirkung von *D. intermedia* vor allem auf den hohen Naphthochinongehalt. Die dominierenden Naphthochinone Plumbagin und 7-Methyljuglon weisen eine antibakterielle Aktivität im Bereich von 50 - 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$ auf (**Publikation B**). Zudem besitzen Naphthochinone ein bekanntes zytotoxisches Potenzial, was ihre pharmazeutische Anwendbarkeit einschränken kann^[52]. Die mittels HPLC bestimmten Konzentrationen zeigen, dass *D. rotundifolia* mit 0,2 % deutlich weniger Plumbagin und 7-Methyljuglon enthält als *D. intermedia* (1,6 %). Der niedrigere Naphthochinongehalt könnte zu einem günstigeren Wirkprofil mit potenziell geringerer Zytotoxizität und besserer Verträglichkeit beitragen, was die Eignung von *D. rotundifolia* für eine pharmakologische Anwendung verbessert. Zusätzlich zeigten Anbauexperimente, dass auf Torfmoosflächen in Norddeutschland, die im Rahmen der Paludikultur bewirtschaftet werden, die Ausbeute von *D. rotundifolia* vierfach höher war als der von *D. intermedia*^[71].

Zur eindeutigen Identifizierung der Stammpflanzen wurden makroskopische, mikroskopische und chromatographische Identitätsmethoden erarbeitet. Die makroskopische Untersuchung beinhaltet eine detaillierte Beschreibung der Blätter, Blüten und Wurzeln und die mikroskopische Untersuchung typischer Strukturen, wie glanduläre Haare und Tentakeln, welche in einer Illustration im Monographie-Entwurf dargestellt sind. Es konnte gezeigt werden, dass die mikroskopische Untersuchung der Drüsenhaare sowie die chromatographische Detektion der Flavonoide eine Abgrenzung von *D. rotundifolia* gegenüber *D. intermedia* ermöglicht. Diese beiden Arten wachsen in denselben Lebensräumen und weisen eine ähnliche Gestalt auf. Dennoch gibt es deutliche morphologische Unterschiede. Die Blattrosette von *D. rotundifolia* enthält in der Regel weniger Blätter. Auch die Blattform unterscheidet sich deutlich.

D. rotundifolia besitzt rundliche Blätter, *D. intermedia* hingegen längliche. Obwohl beide Arten in ähnlichen Standorten vorkommen, bevorzugen sie unterschiedliche Mikrohabitate. *D. intermedia* wächst häufig direkt im Wasser, während *D. rotundifolia* eher in von Moos, Gras oder kleinen Büschen geprägten Bereichen zu finden ist^[72].

Aufgrund dieser feinen Unterschiede kann es insbesondere für ungeübte Sammler leicht zu Verwechslungen kommen. Daher sind zuverlässige Methoden zur Unterscheidung beider Arten sinnvoll.

Die Analyse der Flavonoide mittels Dünnschichtchromatographie (DC) ermöglichte eine Differenzierung anhand der Intensität und des spezifischen Flavonoid-Musters. In *D. intermedia* waren die Banden deutlich schwächer ausgeprägt, was den niedrigeren Flavonoidgehalt dieser Art bestätigt. Zudem wurde in *D. rotundifolia* eine zusätzliche, intensiv fluoreszierende Bande nachgewiesen, die als 2"-O-Galloylhyperosid identifiziert wurde.

Der Entwurf der Monographie zielt nicht nur darauf ab, Verwechslungen auszuschließen, sondern legt auch spezifische Reinheitsanforderungen fest. Da es technisch nicht möglich ist, alle Verunreinigungen vollständig zu eliminieren, insbesondere bei pflanzlichen oder anderen natürlichen Ausgangsstoffen, definieren Arzneibuchmonographien Toleranzgrenzen für Verunreinigungen^[73]. Diese gewährleisten einen praktikablen und wirtschaftlich vertretbaren Herstellungsprozess, ohne dabei gesundheitliche Risiken für den Patienten einzugehen. Neben der Identitätsprüfung sind daher analytische Verfahren erforderlich, um potenzielle Verunreinigungen nachzuweisen und die festgelegten Grenzwerte zu überwachen. Hierfür sind im Monographie-Entwurf verschiedene Methoden zur Qualitätssicherung sowie Grenzwerte, darunter der Test auf Fremdbestandteile (maximal 10 % Moosanteile und 3 % Fremdstoffe), der Trockenverlust (maximal 10,0 %) sowie Aschebestimmungen (maximal 5,0 % Gesamtasche und 2,5 % salzsäureunlösliche Asche), angegeben. Für *Droserae herba* existierten bereits Arzneibuchmonographien, die Qualitätsanforderungen festlegten. Diese Monographien sind jedoch nicht mehr gültig. Dennoch dienen die darin enthaltenen Daten und Methoden als Orientierungspunkt, um bewährte Kriterien zu evaluieren und mit aktuellen wissenschaftlichen Erkenntnissen zu verknüpfen. Bereits im Ergänzungsband zum DAB 6 (1953)^[74] ist eine *Droserae herba*-Monographie mit der ganzen getrockneten Pflanze *D. rotundifolia* aufgeführt. Dabei wurden spezifische Anforderungen an den Gehalt von Fremdbestandteilen und Asche formuliert. So durfte der Anteil von Moos 3 % und der Anteil fremder *Drosera*-Arten wie *D. anglica* und *D. intermedia* nicht mehr als 10 % betragen. Der Aschegehalt war auf maximal 5 % begrenzt. Die Monographien des Deutschen Arzneibuchs (DAB) 7/DDR (1964)^[75] und 2. AB-DDR 87 (1975)^[76], ließen eine maximale Fremdbestandteilmenge von 5 % sowie ein maximaler Aschegehalt von 15 % zu. Das Österreichische Arzneibuch (*Pharmacopoea austriaca*) 9^[77] von 1960 akzeptierte für *D. rotundifolia* einen Anteil von bis zu 10 % an fremden *Drosera*-Arten (*D. anglica* und *D. intermedia*) sowie 3 % Moos und einen Aschegehalt von maximal 8 %. Im Belgischen Arzneibuch (*Pharmacopoea Belgica V*, 1974)^[78] wurden ein maximaler Trocknungsverlust von 10 %, ein maximaler Aschegehalt von 8 % sowie ein Grenzwert für salzsäureunlösliche Asche von maximal 4,5 % und für fremde Bestandteile von maximal 3,5 % festgelegt. Auffällig ist, dass historische Monographien Toleranzgrenzen von bis zu 3 % für Moospartikel akzeptieren.

Da der erarbeitete Monographie-Entwurf den Anbau von *D. rotundifolia* in der Paludikultur fördern soll, bei dem Sonnentau zusammen mit *Sphagnum*-Moosen kultiviert wird, könnte ein Grenzwert von 10 % Moos eine gewisse ökonomische Flexibilität ermöglichen. Dabei muss jedoch sichergestellt werden, dass die Qualität von *Droserae herba* nicht beeinträchtigt wird.

Der Monographie-Entwurf wurde neben den etablierten Reinheitsprüfungen um eine Reinheits-DC ergänzt, die auf der Analyse der Naphthochinone basiert. Mit dieser Methode ließen sich 7-Methyljuglon und Plumbagin detektieren. Die Analyse ergab, dass *D. intermedia* hauptsächlich Plumbagin enthält, während in *D. rotundifolia* überwiegend 7-Methyljuglon nachweisbar ist. Dadurch lassen sich Verunreinigungen durch *D. intermedia* oder andere *Drosera*-Arten identifizieren.

Neben Grenzwerten für Verunreinigungen werden in Arzneibuchmonographien auch Mindestgehalte an Inhaltsstoffen festgelegt. Diese Angaben sind bereits in der Definition der Droge enthalten und gewährleisten einen gleichbleibenden Gehalt über verschiedene Chargen hinweg. Der Monographie-Entwurf definiert einen Mindestgehalt an Gesamtflavonoiden von 4 %, an Flavonoidglykosiden von 2 % sowie einen Konzentrationsbereich für Naphthochinone von 0,2 bis 1 %. Diese Werte basieren auf quantitativen Analysen von *D. rotundifolia* und *D. intermedia*. Dabei zeigte sich, dass *D. rotundifolia* mit einem Flavonoidgehalt von 5,4 % mehr als doppelt so viele Flavonoide enthält wie *D. intermedia* (2,5 %). Das gegensätzliche Bild zeigte sich im photometrisch bestimmten Gesamtgehalt der Naphthochinone. Dieser betrug bei *D. rotundifolia* 0,4 %, während *D. intermedia* mit 0,8 % eine etwa doppelt so hohe Konzentration aufwies. Flavonoide und Naphthochinone sind maßgeblich für die antiinflammatorische^[64], spasmolytische^[79] und antibakterielle^[50] Wirkung des Sonnentaus verantwortlich. Eine standardisierte Zusammensetzung dieser Inhaltsstoffe ist daher entscheidend, um eine gleichbleibende Wirksamkeit zu gewährleisten. Ohne Mindestanforderungen bestünde die Gefahr, dass minderwertige oder therapeutisch unzureichende Sonnentau-Präparate in den Handel gelangen. Zudem ermöglichen diese Spezifikationen eine Differenzierung zwischen *D. rotundifolia* und anderen Sonnentau-Arten wie *D. intermedia*. Besondere Aufmerksamkeit sollte dabei dem Maximalgehalt an Naphthochinonen gelten, da diese Verbindungen eine dosisabhängige Zytotoxizität aufweisen^[80], ^[81].

Untersuchungen zu zwei Naphthochinonen an Mundschleimhaut-Epithelzellen (TR146) und bronchialen Epithelzellen (A549) zeigten, dass Plumbagin bei einer Konzentration von ca. 1 µg mL⁻¹ die Zellvitalität um 50 % reduziert (IC₅₀), womit es eine höhere Toxizität aufweist als 7-Methyljuglon (IC₅₀: 5,3 µg mL⁻¹) (**Publikation B**). Plumbagin kommt vor allem in *D. intermedia* vor, während *D. rotundifolia* einen höheren Gehalt an 7-Methyljuglon aufweist (**Publikation B**). Dies könnte die geringere Toxizität des *D. rotundifolia*-Extrakts im Vergleich zu *D. intermedia* erklären.

Die IC₅₀-Werte für *D. rotundifolia* lagen bei 63,2 µg mL⁻¹ (TR146) und 48,3 µg mL⁻¹ (A549), während für *D. intermedia* deutlich niedrigere Werte von 5,9 µg mL⁻¹ (TR146) und 11,2 µg mL⁻¹ (A549) gemessen wurden. Dies zeigt, dass der Extrakt von *D. intermedia* je nach Zelllinie 5- bis 10-mal toxischer ist als der von *D. rotundifolia* (**Publikation B**).

Die zytotoxischen Effekte von Plumbagin verdeutlichen die Notwendigkeit, eine Obergrenze für Naphthochinone in der Qualitätskontrolle von *Droserae herba* festzulegen, um die Sicherheit der Anwendung zu gewährleisten.

Im Monographie-Entwurf wurde zur quantitativen Bestimmung des Flavonidgehalts zudem zwischen Gesamtflavonoiden und Glykosidflavonoiden unterschieden, basierend auf unterschiedlichen analytischen Verfahren. Zur Bestimmung wurden sowohl photometrische als auch HPLC-Methoden entwickelt und angewandt. Die photometrische Methode erfasst Flavonoide anhand charakteristischer Strukturelemente innerhalb ihrer Grundstrukturen^[82] und ermöglicht eine Gesamtquantifizierung. Im Gegensatz dazu erlaubt die HPLC-Methode eine gezielte Analyse einzelner Flavonoide in komplexen pflanzlichen Rohextrakten^[83]. Dies bietet den Vorteil, dass neben der Quantifizierung auch das spezifische Flavonoid-Profil erfasst werden kann, was die Identifizierung der *Drosera*-Art unterstützt. Zudem kann die Messung einzelner Substanzen zur Beurteilung der Wirksamkeit beitragen, was die Therapiesicherheit fördert, da Substanzen innerhalb einer Stoffgruppe unterschiedliche pharmakologische Profile aufweisen können. Eine vergleichende Untersuchung bewertete die photometrische Methode des Ph. Eur. und eine HPLC-Methode zur Bestimmung von Procyanidinen in *Crataegus*-Arten. Hierbei wurde ebenfalls der Vorteil der HPLC-Methode hervorgehoben, die eine präzise Identifizierung einzelner Procyanidine ermöglicht^[84]. Eine weitere Studie zeigte zudem den Vorteil der Identifizierung charakteristischer Inhaltsstoffe von gerbstoffhaltiger pflanzlicher Drogen. Im Vergleich zur unspezifischen kolorimetrischen Folin-Ciocalteu-Methode des Ph. Eur. ermöglicht die HPLC-Methode eine genauere Bestimmung des Tanningehaltes^[85]. Im Monographie-Entwurf wurde daher die UV-VIS-Spektroskopie zur Bestimmung des Gesamtgehalts an Naphthochinonen gewählt, um sicherzustellen, dass in den verwendeten Pflanzen keine schädliche Überkonzentration vorliegt. Diese Methode ermöglicht eine effiziente quantitative Analyse und hat den Vorteil, dass sie nicht nur einzelne Naphthochinone wie Plumbagin erfasst, sondern auch weitere strukturell verwandte Verbindungen berücksichtigt. Dadurch lässt sich das potenzielle Risiko einer Gesamtoxizität besser abschätzen. Zudem zeigt sich die Effizienz dieser Methode auch im Vergleich mit der HPLC-Analyse: In einer Untersuchung von Lokalanästhetika erwies sich die UV-VIS-Spektroskopie als deutlich zeitsparender. Während die Genauigkeit, Präzision und Wiederholbarkeit beider Methoden vergleichbar waren, lag der Hauptvorteil der UV-VIS-Spektroskopie in der deutlich kürzeren Analysendauer und der Einfachheit des Verfahrens^[86]. Hingegen ermöglichen HPLC-Methoden auch die Detektion von Verunreinigungen^[87]. In den letzten Jahren hat sich die Einführung der HPLC-Methode in die Monographien des Ph. Eur.^[88] zunehmend etabliert, insbesondere bei Drogen mit komplexen Inhaltsstoffen. Beispielsweise fordert das Ph. Eur. für Kamillenblüten (*Matricariae flos*) einen Mindestgehalt an Apigenin-7-glucosid von 0,25 %. Für die quantitative Bestimmung wird eine HPLC-Methode gewählt^[89]. Ein weiteres Beispiel ist die Monographie von Johanniskrauttrockenextrakt (*Hyperici herba extractum siccum*).

Die Bestimmung des Hypericingehalts erfolgt im Gegensatz zur Droge Johanniskraut (*Hyperici herba*) nicht spektralphotometrisch, sondern mittels HPLC-Methode, die sowohl Hypericin als auch Pseudohypericin erfasst^{[89], [90]}. Der Monographie-Entwurf soll als Grundlage für die Aufnahme von *Droserae herba* in das Ph. Eur. dienen. Ein Gutachten des Unternehmens PhytoLab bestätigt, dass der grundlegende Aufbau des Entwurfs den Anforderungen entspricht, weist jedoch auf notwendige stilistische und inhaltliche Überarbeitungen hin^[91]. Im Gutachten wird zudem die Erarbeitung einer aktuellen Monographie als sinnvoll erachtet, da Sonnentau als altbekannte Arzneipflanze bereits in früheren Arzneibuchmonographien und pharmazeutischen Produkten berücksichtigt wurde, jedoch keine gültige Monographie mehr existiert.

Ein entscheidender Faktor für die Wahl dieser *Drosera*-Spezies war die Möglichkeit des nachhaltigen Anbaus. Dieser bietet kontrollierte Bedingungen und kann neben einer ressourcenschonenden Beschaffung auch zur Sicherstellung einer gleichbleibenden Qualität des Pflanzenmaterials beitragen. Das für die Untersuchung genutzte Pflanzenmaterial stammt von Torfmoosflächen in Norddeutschland, die im Rahmen der Paludikultur bewirtschaftet werden. Diese Flächen bieten durch ihre nährstoffarme und feuchte Beschaffenheit ideale Bedingungen für den Anbau von Sonnentau.

2.2 Nachweis der traditionellen biologischen Wirkung und Bewertung der Unbedenklichkeit von *Droserae herba*

Die Etablierung einer Qualitätskontrolle von hochwertigem und nachhaltigem Pflanzenmaterial stellt eine entscheidende Grundlage für die Entwicklung von der traditionellen Anwendung hin zur modernen Phytotherapie dar. Ein weiterer wesentlicher Aspekt ist der wissenschaftlich fundierte Nachweis der biologischen Wirkung. Traditionell wird *Droserae herba* zur Behandlung krampfhafter Atemwegserkrankungen angewendet, wobei seine Wirksamkeit auf antiinflammatorische^[92] und antibakterielle^[93] Eigenschaften zurückgeführt wird. Die Untersuchung der antiinflammatorischen Wirkung erfolgte in Kooperation mit der Arbeitsgruppe von Frau Prof. Dr. U. Garscha (Institut für Pharmazie, Universität Greifswald). Dabei wurde der Effekt von *Droserae herba* auf die Aktivität der 5-Lipoxygenase (5-LOX) untersucht. Diese Untersuchung fand zum einen am aufgereinigten Enzym aus *E. coli* und zum anderen an intakten polymorph-kernigen neutrophilen Leukozyten (PMNL) statt^{[94], [95]}. Werden diese Immunzellen bei einer Entzündung aktiviert, setzen sie Arachidonsäure (AA) mithilfe der cytosolischen Phospholipase A₂ aus ihrer Zellmembran frei. Die enzymatische Umwandlung von AA in proinflammatorische Metabolite wie Leukotriene erfolgt initial durch die 5-LOX, wobei intermediär 5-Hydroxyperoxyarachidonsäure und Leukotrien A₄ entstehen. Nachfolgend übernehmen weitere Enzyme die Bildung spezifischer Leukotriene^{[96], [97]}. Leukotriene sind Lipidmediatoren, die eine Schlüsselrolle in der Entstehung entzündlicher Erkrankungen, wie beispielsweise Asthma bronchiale oder rheumatoide Arthritis, spielen^[98].

Sie fördern die Rekrutierung und Aktivierung von Immunzellen am Ort des Entzündungsgeschehens und tragen so zur Aufrechterhaltung der Entzündungsreaktion bei.

Da die Bildung dieser Mediatoren mit der Aktivität der 5-LOX korreliert, konnte durch die Messung der Lipidmediator-Produktion in PMNL gezeigt werden, dass der Extrakt von *D. rotundifolia* die 5-LOX-Aktivität bei einer Konzentration von $41,8 \mu\text{g mL}^{-1}$ um 50 % hemmt (IC_{50}). Der *D. intermedia*-Extrakt erreichte die gleiche Hemmung bei $16,5 \mu\text{g mL}^{-1}$.

In Tests mit gereinigter 5-LOX wurde für den *D. rotundifolia*-Extrakt ein IC_{50} -Wert von $0,42 \mu\text{g mL}^{-1}$ bestimmt, während der Wert für *D. intermedia* bei $0,97 \mu\text{g mL}^{-1}$ lag. Diese Ergebnisse weisen auf eine antiinflammatorische Wirkung der Droserae herba Extrakte hin, die mit einer Reduktion proinflammatorischer Lipidmediatoren assoziiert ist. Allerdings war die Hemmwirkung am isolierten Enzym bis zu 24-fach stärker als in intakten Zellen, was auf eine eingeschränkte Zellpenetration oder eine schnelle Metabolisierung der wirksamkeitsbestimmenden Inhaltsstoffe hindeuten könnte.

Ein Phytopharmakon muss nicht nur in seiner Wirkung wissenschaftlich belegt sein, sondern auch die Sicherheitsprofile der Inhaltsstoffe müssen dokumentiert und durch klinische Studien unterstützt werden. Erste Schritte für die Einschätzung der Unbedenklichkeit von Droserae herba Extrakten wurden an Monolayer-basierten Zellkulturen durchgeführt (**Publikation A**). Zelllinien bieten den Vorteil, dass sie eine standardisierte und gut kontrollierbare Umgebung für erste Untersuchungen bieten. Im weiteren Schritt wurden Tests an drei-dimensionalen (3D) Zellmodellen durchgeführt (**Publikation C**). Mit diesen Modellen können *in vivo* Bedingungen realistischer abgebildet werden, da 3D-Modelle sowohl Zell-Zell-Interaktionen als auch die Gewebearchitektur berücksichtigen. Abschließend wurde ein *in vivo* *Galleria*-Modell verwendet, um die Anwendung der Substanzen in einem biologisch relevanteren System zu testen (**Publikation C**). Trotz der Unterschiede zu Wirbeltieren hat *Galleria mellonella* immunologische und physiologische Eigenschaften, die denen von Säugetieren ähneln, einschließlich eines angeborenen Immunsystems^[99]. Somit stellt dieses Modell eine wichtige Schnittstelle dar, um den Einfluss von Inhaltsstoffen auf den Stoffwechsel und die Funktionalität von Zellen in einem lebenden Organismus besser zu verstehen und zu simulieren^[100]. Diese Modellreihe, von Zelllinien über 3D-Modelle bis hin zum *in vivo* *Galleria*-Modell, bietet eine schrittweise Annäherung an die komplexeren physiologischen Gegebenheiten im menschlichen Körper und trägt so dazu bei, die Wirksamkeit und Sicherheit eines Phytopharmakons auf solide, wissenschaftlich fundierte Daten zu stützen. Die Untersuchungsergebnisse wurden in zwei Publikationen veröffentlicht (**Publikation A** und **C**). Für die Etablierung des 3D-Zellmodells kamen Mukosa-Zellen (TR146) zum Einsatz. Mukosa-Zellen stehen naturgemäß als äußere Barriere in direktem Kontakt mit oral verabreichten Substanzen. Es wurden Extrakte, angereicherte Fraktionen und Einzelsubstanzen getestet. Die Fraktionen beinhalten vermehrt Flavonoide einerseits und Naphthochinone andererseits. Die Ergebnisse zeigten, dass die Zellvitalität nach Behandlung mit dem Extrakt und der Flavonoid-Fraktion nicht beeinträchtigt wurde. Eine konzentrationsabhängige Abnahme der Vitalität wurde jedoch unter Behandlung mit der Naphthochinon-Fraktion beobachtet. Sie enthält die für ihre zytotoxischen Wirkungen bekannte Verbindungen 7-Methyljuglon und Plumbagin^{[101], [102]}.

Trotz dieser Effekte blieb die Zellintegrität unter allen Behandlungen erhalten, was durch unveränderte TEER-Werte (Trans-Epitheliale Elektrische Resistenz) belegt wurde.

Die Untersuchung im *in vivo* *Galleria*-Modell zeigte, dass innerhalb der ersten 24 Stunden keine Larven verstorben waren und die Gesamtmortalität über vier Tage gering war. Einzelne Larven starben nach 48 bis 72 Stunden sowohl unter Behandlung mit der Flavonoid- und Naphthochinon-Fraktion als auch in der Kontrollgruppe. (**Publikation C**). Zusammenfassend bestätigen die Ergebnisse des 3D-Zellmodells und *Galleria*-Modell die geringe Toxizität der getesteten Extrakte und Fraktionen.

Neben den antiinflammatorischen Eigenschaften wurde auch die antimikrobielle Wirkung von *Droserae herba* Extrakten untersucht, um ihr therapeutisches Potenzial weiter zu charakterisieren. Angesichts der zunehmenden Antibiotikaresistenzen rücken antimikrobiell wirkende Naturstoffe verstärkt in den Fokus der Forschung. Diese Arbeit untersucht die Wirksamkeit von *Droserae herba* Extrakten gegen die ESKAPE-Stämme *Acinetobacter (A.) baumannii* (PBIO2202), *Klebsiella (K.) pneumoniae* (PBIO2010) und *Pseudomonas (P.) aeruginosa* (PBIO903), *Staphylococcus (S.) aureus* (PBIO838) sowie *Escherichia (E.) coli* (PBIO904), die als klinisch besonders relevante multiresistente Erreger gelten und *Bacillus (B.) subtilis* (PBIO943). Ergänzend wurden *Candida (C.) albicans* (PBIO837) und *C. maltosa* (PBIO499) getestet. Hefen sind häufig an Sekundärinfektionen bei Patienten mit Asthma oder Mukoviszidose beteiligt^[103]. Auch hier gewinnt die Erforschung alternativer therapeutischer Ansätze angesichts der zunehmenden Resistenzentwicklung an Bedeutung^[104]. Die antimikrobielle Testung erfolgte initial mit einem Agardiffusionstest. Bei Stämmen, die eine Hemmung zeigten, folgte die Bestimmung der MHK. Für den Agardiffusionstest wurden 1 mg Ethanol-Extrakt auf 6-mm-Testscheiben aufgebracht und anschließend gewartet, bis das Lösungsmittel bei Raumtemperatur verdunstet war. Nach Verdünnung des Inokulums der Testkeime auf 0,5 McFarland-Standard mit LB-Medium erfolgte das Ausstreichen auf LB-Agar bzw. Sabouraud-Agar (für *C. albicans* und *C. maltosa*), das Aufbringen der Testscheiben und die Messung des Hemmzonen-Durchmessers nach 24 Stunden Inkubation bei 37 °C (27 °C für *C. albicans* und *C. maltosa*) und die Messung der Hemmzonen-Durchmesser. Als Positivkontrolle dienten 5 µg Ciprofloxacin für *P. aeruginosa* und *A. baumannii*, 10 µg Ampicillin für *E. coli* und *B. subtilis* sowie 50 µg Nystatin für *C. albicans* und *C. maltosa*. Die Ergebnisse des Agardiffusionstests zeigten eine antibakterielle Wirkung von *D. rotundifolia* und *D. intermedia* Extrakten gegen *S. aureus*, *A. baumannii*, *E. coli* und *B. subtilis*. Bei *P. aeruginosa* konnte keine direkte antibakterielle Wirkung festgestellt werden. Allerdings wurde eine Veränderung der Oberflächenstruktur beobachtet, was auf eine mögliche Beeinträchtigung der bakteriellen Virulenz, wie die Beeinflussung der Biofilmbildung, hindeutet. Darüber hinaus zeigte sich auch eine antimykotische Wirkung gegen *C. albicans* und *C. maltosa*. Die Ergebnisse des Agardiffusionstests wurden größtenteils durch die Bestimmung der MHK bestätigt.

Bei *A. baumannii* und *E. coli* konnte eine antibakterielle Wirkung beider Extrakte im Agardiffusionstest nachgewiesen werden, jedoch lag diese außerhalb der maximalen Konzentration von 2 mg mL⁻¹ *D. rotundifolia*-Extrakt, die bei der Bestimmung der MHK verwendet wurde.

Die zusätzlich erhobenen Daten des Agardiffusionstests und der MHK der getesteten Bakterien und Hefen sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Tabelle 1. Ergebnisse der antiinflammatorischen und antimikrobiellen Testung von *Drosera rotundifolia* und *Drosera intermedia* Extrakte, Mittelwert [\pm SD], n=3.

	<i>Drosera rotundifolia</i> $\mu\text{g mL}^{-1}$	<i>Drosera intermedia</i> $\mu\text{g mL}^{-1}$	
ANTIINFLAMMATORISCHE TESTUNG			
5-LOX	0,42 [\pm 0,04]	0,79 [\pm 0,13]	- IC ₅₀ -Werte
PMNL	41,8 [\pm 5,6]	16,5 [\pm 3,3]	
ANTIMIKROBIELLE TESTUNG			
Gramnegative Bakterien			
<i>Acinetobacter baumannii</i>	> 2000	392 [\pm 188]	- die Farbskala zeigt die Ergebnisse des Agardiffusionstests <div style="display: flex; align-items: center; margin-bottom: 5px;"> <div style="width: 15px; height: 15px; background-color: #d9ead3; margin-right: 5px;"></div> <div style="font-size: 0.8em; margin-right: 5px;">geringer Effekt: bis 15 mm Hemmhofdurchmesser</div> </div> <div style="display: flex; align-items: center; margin-bottom: 5px;"> <div style="width: 15px; height: 15px; background-color: #5cb85c; margin-right: 5px;"></div> <div style="font-size: 0.8em; margin-right: 5px;">starker Effekt: ab 15 mm Hemmhofdurchmesser</div> </div> <div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="width: 15px; height: 15px; background-color: #d9534f; margin-right: 5px;"></div> <div style="font-size: 0.8em; margin-right: 5px;">kein Effekt</div> </div>
<i>Escherichia coli</i>	> 2000	1733 [\pm 231]	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	
Grampositive Bakterien			
<i>Bacillus subtilis</i>	833 [\pm 493]	125 [\pm 55]	- die Zahlenwerte zeigen die minimalen Hemmkonzentrationen
<i>Staphylococcus aureus</i>	900 [\pm 100]	82 [\pm 38]	
Hefen			
<i>Candida albicans</i>	200 [\pm 0]	73 [\pm 15]	
<i>Candida maltosa</i>	200 [\pm 100]	70 [\pm 17]	

Die antibakterielle Wirkung der getesteten Extrakte gegen *S. aureus*, *A. baumannii*, *E. coli* und *B. subtilis* zeigt, dass Droserae herba ein breites Spektrum an antimikrobiellen Eigenschaften aufweist, was für die Behandlung von Atemwegserkrankungen von Bedeutung ist. *S. aureus*^[83] und *A. baumannii*^[105] verursachen oft nosokomiale Pneumonien, *E. coli*^[106] kann bei geschwächter Immunabwehr respiratorische Infektionen auslösen und *B. subtilis* dient als Modellorganismus für Sporenbildner^[107]. Die Behandlung von sporenbildenden Keimen stellt oft eine besondere Herausforderung dar, da die Pathogene trotz antibakterieller Therapie im Wirt überleben können. Der antimykotische Effekt gegen *C. albicans* und *C. maltosa* ist besonders interessant, da Hefen wie *C. albicans* bei Atemwegserkrankungen, insbesondere bei immungeschwächten Patienten, Candidosen verursachen können^[107]. Bei Asthmapatienten, die kortisonhaltige Inhalationspräparate anwenden, besteht bei unsachgemäßer Handhabung die Möglichkeit, etwa durch das Versäumen, den Mund nach der Inhalation gründlich zu spülen, dass es zu einer Mundsoor-Infektion (Candidose) kommt^[108]. Grund dafür ist die immunsupprimierende Wirkung des Kortisons. Im Zusammenhang mit den antibakteriellen Untersuchungen und den Ergebnissen des Agardiffusionstests, bei dem eine Veränderung der Oberflächenstruktur von *P. aeruginosa* festgestellt wurde, stellte sich die Frage, ob Droserae herba einen Einfluss auf die Biofilmbildung ausübt, da dieses Bakterium für seine Fähigkeit zur Biofilmbildung bekannt ist^[109].

Diese Fragestellung ist Gegenstand eines Nachfolgeprojekts, wobei die Untersuchung der biofilmhemmenden Wirkung von Droserae herba gegen *E. coli* als Modellkeim in der vorliegenden Arbeit adressiert wird.

Da multiresistente *E. coli*-Stämme in klinischen Infektionen, insbesondere bei Harnwegsinfektionen, eine bedeutende Rolle spielen und ihre Biofilmbildung zur Antibiotikaresistenz beiträgt, wurden gezielt multiresistente Stämme für die Untersuchungen gewählt. Die Analyse der biofilmhemmenden Eigenschaften von *Droserae herba* könnte daher potenzielle therapeutische Ansätze zur Bekämpfung biofilmbildender multiresistenter Erreger liefern.

2.3 Einfluss von *Droserae herba* auf Biofilmbildung; Mechanismen und molekulare Zielstrukturen

E. coli ist ein kommensaler Darmbewohner vieler Vögel und Säugetiere, einschließlich des Menschen.^{[110], [111]} Durch seine hohe Anpassungsfähigkeit an verschiedene Wirte handelt es sich um eine vielseitige Bakterienart, die sowohl aus kommensalen als auch aus pathogenen Subtypen besteht^{[112], [113]}.

Für die Untersuchung wurden drei klinische Isolate uropathogener ESBL-bildender *E. coli* (UPEC) gewählt, die zur Gruppe B2 (ST131) und D (ST648) und zur Kategorie der extra-intestinal pathogenen *E. coli* (ExPEC) zählen. Die ESBL-Gene, wie CTX-M-15, befinden sich häufig auf großen Plasmiden, die zahlreiche weitere Resistenzgene gegen verschiedene Antibiotikaklassen tragen und so zur Ausbildung einer Multiresistenz beitragen^{[114], [115]}. Lange wurde angenommen, dass die Fähigkeit zur Multiresistenz immer mit einem Fitnessverlust der Bakterien verbunden ist. Neuere Studien haben jedoch gezeigt, dass bestimmte resistente Linien, wie der verwendete *E. coli* ST131, ihre Resistenz auch ohne antibiotischen Selektionsdruck beibehalten und gleichzeitig Virulenzeigenschaften wie die Bildung von Biofilmen entwickeln^{[116], [117]}. Diese Kombination aus Resistenz und Virulenz hat zur pandemischen Ausbreitung solcher Stämme beigetragen^[118]. In einem phänotypischen Assay konnte gezeigt werden, dass unter dem Einfluss von *D. rotundifolia* und *D. intermedia* die Bildung von Curli- und Cellulose, zwei Hauptbestandteile der extrazellulären Matrix des Biofilms, gehemmt war^{[119], [120], [121]}. Die Ergebnisse der Testung sind in der **Publikation B** veröffentlicht. Dabei konnte in bioaktivitätsgeführten Untersuchungen von Extrakten, Fraktionen und Einzelsubstanzen aus *D. rotundifolia* und *D. intermedia* gezeigt werden, dass die biofilmhemmende Wirkung durch den hohen Gehalt an Flavonoiden, insbesondere 2"-O-Galloylherperosid, vermittelt wird. Bereits bei einer Konzentration von 12,5 µg mL⁻¹ zeigte diese Substanz eine Hemmung der Biofilmbildung. Die getesteten Extrakte erzielten eine vergleichbare Wirkung in einem Konzentrationsbereich von 25 - 50 µg mL⁻¹. Hervorzuheben ist, dass bei dem Extrakt die biofilmhemmende Wirkung gegen alle drei verwendeten *E. coli*-Stämme, im Gegensatz zu den Werten der Einzelsubstanzen, sehr konstant war. Dies könnte auf eine Kombination verschiedener Wirkungen von mehreren Inhaltsstoffen des Extrakts hindeuten, die Schwankungen zwischen den getesteten Stämmen minimiert. Fraglich ist, ob es sich hierbei um einen synergistischen oder additiven Effekt handelt.

Die antimikrobiellen Untersuchungen zeigten, dass *Droserae herba* gegen verschiedene pathogene Keime wirksam ist. Neben der direkten antibakteriellen Aktivität konnte zudem eine biofilmhemmende Wirkung beobachtet werden.

Die Ergebnisse legen nahe, dass *Droserae herba* nicht nur wegen der antimikrobiellen und antiinflammatorischen Eigenschaften, sondern auch aufgrund der biofilmhemmenden Wirkung therapeutisches Potenzial aufweist. Durch Einblicke in die molekularen Mechanismen kann das Verständnis der Biofilmhemmung vertieft und das Potenzial für eine gezieltere und wirksamere therapeutische Nutzung von *Droserae herba* erweitert werden. Oft sind Proteine, insbesondere Enzyme und G-Protein-gekoppelte Rezeptoren, molekulare Zielstrukturen von Wirkstoffen^{[122], [123]}.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden die Veränderungen der Abundanz von Proteinen sowie einzelner Metabolite von *E. coli*-Zellen während der Biofilmbildung untersucht, wobei zwei Zustände miteinander verglichen wurden. Zum einen die unbeeinflusste Biofilmbildung und zum anderen die Biofilmbildung unter der Einwirkung von *D. rotundifolia* Extrakten, Fraktionen und isolierten Einzelsubstanzen. Die Proteom-Analyse fand in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Frau Prof. Dr. D. Becher (Institut für Mikrobiologie, Universität Greifswald) statt. Die Ergebnisse sind in **Publikation C** zusammengefasst und zeigen, dass durch die Behandlung mit *D. rotundifolia* unter anderem die Abundanz von Proteinen des Eisenhaushaltes von *E. coli* beeinflusst wurde. Eisen ist ein essenzielles Spurenelement, das für das Wachstum von Bakterien unverzichtbar ist^{[124], [125]}. Im menschlichen Körper ist freies Eisen stark limitiert, da es durch Proteine wie Transferrin, Ferritin und Lactoferrin gebunden wird^[126]. Eine Strategie des menschlichen Immunsystems ist es, durch die Einschränkung von Eisen die Vermehrung von Krankheitserregern zu hemmen. Dies wird als „Nutritional Immunity“ bezeichnet^[127]. Dabei regelt beispielsweise das Hormon Hepcidin die Eisenaufnahme, indem es das Eisenexportprotein Ferroportin blockiert^[128]. Pathogene *E. coli*-Stämme haben jedoch spezialisierte Mechanismen entwickelt, um Eisen aus Wirtsproteinen zu extrahieren. Durch die Produktion von Siderophoren, wie Enterobactin, wird Eisen gebunden und über spezifische Rezeptoren aufgenommen, wodurch Infektionen aufrechterhalten werden^[129]. Die Untersuchung zeigte, dass unter dem Einfluss von *D. rotundifolia* Extrakten die Abundanz von Proteinen erhöht war, die an der Bildung von Enterobactin beteiligt sind. Diese erhöhte Produktion könnte als Adaptation des Erregers auf einen Eisenmangel zurückzuführen sein, der durch die Komplexbildung von Eisen mit Flavonoiden entsteht. Die Fähigkeit von Flavonoiden, Eisen zu komplexieren, wurde in dieser Studie sowohl experimentell als auch mittels *In silico* Analysen untersucht und durch weitere Studien bestätigt^{[130], [131]} (**Publikation C**).

Zudem stellt Eisen einen wesentlichen Faktor für die Biofilmbildung bei *E. coli* dar. In der Literatur wurde eine Korrelation zwischen niedrigen Eisenspiegeln und der Biofilmentwicklung postuliert, wobei höhere Eisenspiegel die Bildung von Biofilmen fördern^[132]. In diesem Kontext spielt IscR (HTH-type transcriptional regulator), ein bedeutender Eisenregulator, eine zentrale Rolle.

Unter eisenlimitierenden Bedingungen reguliert IscR die Expression von Fimbrien des Typs I, was zu einer verringerten Oberflächenanhaftung und einer reduzierten Ausbreitung von Biofilmen führt^[133].

Die Rolle von Eisen in der bakteriellen Physiologie ist nicht nur entscheidend für die Biofilmbildung, sondern auch ein strategischer Angriffspunkt bei der Entwicklung neuer therapeutischer Ansätze zur Bekämpfung multiresistenter Bakterien. Ein Beispiel für einen solchen Ansatz ist Cefiderocol, ein Antibiotikum zur Bekämpfung multiresistenter Gram-negativer Bakterien, wie *E. coli*. Der Wirkstoff bindet Eisen und wird über spezifische Eisenaufnahme-Transporter in die Bakterienzellen aufgenommen. Dort bindet es an Penicillin-bindende Proteine und hemmt dadurch die Zellwandsynthese, was zum Absterben der Bakterien führt^{[134], [135], [136]}.

Das Prinzip der bioaktivitätsgeführten Testung fand Anwendung in der Proteom-Analyse, da neben der Untersuchung des Gesamtextrakts auch Stoffgruppen und Einzelsubstanzen analysiert wurden, um Anhaltspunkte zur Wirkweise bioaktiver Inhaltsstoffe zu gewinnen. Für die Analyse der Stoffgruppen wurden zwei Fraktionen mittels Festphasenextraktion hergestellt, mit angereicherten Flavonoiden beziehungsweise Naphthochinonen. Jeweils ein Vertreter aus beiden Stoffgruppen diene als Testsubstanz, 2'-O-Galloylhyperosid für die Flavonoide und 7-Methyljuglon für die Naphthochinone. Diese stellen die Hauptkomponenten in ihrer jeweiligen Gruppe im *D. rotundifolia*-Extrakt dar. Außerdem wies 2'-O-Galloylhyperosid unter den getesteten Flavonoiden das höchste biofilmhemmende Potenzial auf (**Publikation B**). Obwohl in einigen Studien die metallkomplexierenden Eigenschaften von Naphthochinonen bereits Gegenstand der Forschung waren^{[137], [138]}, und die Proteom-Analysen eine Beeinflussung der Eisenstoffwechsel-Proteine zeigten, ergab die Untersuchung des Komplezierungsverhaltens von Eisen durch 7-Methyljuglon nur einen geringen Effekt im Vergleich zu den getesteten Flavonoiden (**Publikation C**). Diese Beobachtungen deuten darauf hin, dass andere Mechanismen für die biofilmhemmende Wirkung der Naphthochinone verantwortlich sein könnten. In einer zusammenfassenden Arbeit werden Naphthochinone als vielversprechende Verbindungen zur Bekämpfung von multiresistenten Bakterien beschrieben, da sie über verschiedene Mechanismen antibakteriell wirken können^[139]. Eine bemerkenswerte Eigenschaft ist ihre Fähigkeit, die Stabilität von Plasmiden durch Hemmung der DNA-Replikation zu beeinträchtigen. Dadurch werden Resistenzgene, die häufig auf Plasmiden lokalisiert sind, entfernt und die Antibiotikaempfindlichkeit der Bakterien wiederhergestellt. Zu den weiteren Mechanismen gehört die Hemmung von Effluxpumpen, die Antibiotika aus der Zelle transportieren. Außerdem können Naphthochinone durch ihre redoxaktiven Eigenschaften reaktive Sauerstoffspezies (ROS) erzeugen, die zu oxidativem Stress und damit zur Schädigung von Zellstrukturen führen^[140]. Eine weitere Wirkweise besteht in der Hemmung von Topoisomerasen, Enzymen, die für die DNA-Replikation und Zellteilung essenziell sind. Dabei hängt die antibakterielle Aktivität der Naphthochinone von ihrer chemischen Struktur ab. Hydroxylgruppen verstärken die Wirksamkeit, während sperrige oder stark lipophile Substituenten sie mindern. Die Position der Carbonylgruppen (1,4- vs. 1,2-Naphthochinone) und Substitutionen mit Halogen-, Schwefel- oder Stickstoffgruppen beeinflussen die antibakterielle Aktivität.

In der Proteom-Analyse zeigte 7-Methyljuglon eine erhöhte Abundanz von UspE, einem universellen Stressprotein, sowie von OmpR, einem DNA-bindenden, transkriptionellen Doppelregulator, der eine zentrale Rolle bei der Biofilmbildung und Eisenaufnahme spielt (**Publikation C**). Vorstellbar ist, dass Flavonoide durch die Komplexierung von Eisen einen Eisenmangel verursachen, während Naphthochinone oxidativen Stress induzieren und dadurch den Eisenbedarf erhöhen, da einige Enzyme der Stressantwort eisenabhängig sind^[141]. Durch die von den Flavonoiden erzeugte eisenarme Umgebung kann es zu einem Eisenmangel in den Bakterien und damit veränderter Gegenregulationen kommen. Die Kombination aus Flavonoiden und Naphthochinonen könnte daher eine gezielte Strategie zur Schwächung bakterieller Virulenzfaktoren darstellen.

Zusätzlich zur Proteom-Analyse sind die Veränderungen in der Abundanz von 63 Metaboliten während der Biofilmbildung von *E. coli* mit und ohne den Einfluss von *Drosera herba* analysiert worden. Die Metabolom-Analyse erfolgte nach 24 und 48 Stunden. Diese Untersuchungen wurden in Kooperation mit der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. M. Lalk (Institut für Biochemie, Universität Greifswald) durchgeführt. Diese Ergebnisse zeigten nur geringe Veränderungen in der Häufigkeit der Metabolite, die im Kohlenhydratstoffwechsel, dem Tricarbonsäurezyklus (TCA), dem Aminosäurestoffwechsel und dem Fettsäureabbau entstehen. Diese Veränderungen waren vor allem nach 24 Stunden sichtbar. Auffällig war die erhöhte Häufigkeit des Metaboliten Citrat. Citrat ist ein wesentlicher Bestandteil im Stoffwechsel von *E. coli*, insbesondere im TCA-Zyklus, wo es als Zwischenprodukt eine zentrale Rolle bei der Energiegewinnung spielt. Darüber hinaus wird Citrat als Eisenquelle beschrieben, da es Eisen binden kann und die Aufnahme in die Zellen fördert^[142]. Jedoch fungiert Citrat als exogener Chelator für Eisen und nicht als von *E. coli* selbst produziertes Siderophor. Die meisten *E. coli*-Stämme können Citrat nur unter anaeroben Bedingungen verwerten^[143]. Eine Studie zeigte jedoch, dass *E. coli* nach Expression des *citT*-Gens unter aeroben Bedingungen auf Citrat wachsen konnte. CitT (Citrate/Succinat Antiporter) vermittelt den Transport von Citrat entweder im Austausch gegen Citrat selbst oder gegen andere organische Säuren wie Succinat, Fumarat oder Tartrat^[144]. Obwohl CitT im Gesamtproteom des für die Analyse verwendeten *E. coli* ST131 enthalten ist, konnte es in der Proteom-Analyse nicht nachgewiesen werden.

Eine Studie zeigte, dass Stoffwechselprodukte wie L-Tryptophan, 5'-Methylthioadenosin, Spermidin, Cytidinmonophosphat und L-Leucin die Biofilmbildung beeinflussen können^[145]. Im Zellstoffwechsel spielen die genannten Verbindungen für *E. coli* eine wichtige Rolle. L-Tryptophan und L-Leucin sind essentielle Aminosäuren, die für die Proteinsynthese notwendig sind^[146]. 5'-Methylthioadenosin spielt eine Rolle in der Regulierung zellulärer Prozesse wie Protein- und DNA-Methylierung und der Polyaminsynthese^[147]. Polyamine wie Spermidin, unterstützen das Zellwachstum, die Proteinbiosynthese und die Stabilität der Zellmembranen^{[148], [149]}.

Cytidinmonophosphat ist ein Nukleotid, das in der RNA-Synthese benötigt wird. Während L-Leucin die Biofilmbildung fördert, zeigen L-Tryptophan, 5'-Methylthioadenosin, Spermidin und Cytidinmonophosphat hemmende Effekte^[145].

Obwohl die Metabolom-Analyse keine spezifischen Hinweise auf eine Veränderung des Polyaminstoffwechsels lieferte, zeigten die Proteom-Daten eine veränderte Abundanz eines Lysin/Arginin/Ornithin-Transporters (ArgT) ($\text{Log}_2\text{FC} -1,35$), eines Putrescin-bindenden periplasmatischen Proteins (PotF) ($\text{Log}_2\text{FC} -0,83$), einer bifunktionellen Polyhydroxybutyrat-Synthase/ABC-Transporters (YdcS) ($\text{Log}_2\text{FC} -0,83$) sowie einer Ornithindecaboxylase (SpeF) ($\text{Log}_2\text{FC} 1,71$) (**Publikation C**). ArgT ist ein periplasmatisches Bindungsprotein eines Transportsystems, das an der Aufnahme von Lysin, Arginin und Ornithin beteiligt ist. PotF und YdcS sind ebenfalls periplasmatische Bindungsproteine und für den Transport von Putrescin bzw. Spermidin verantwortlich. Diese Polyamine entstehen aus Aminosäuren wie Lysin, Arginin und Ornithin. L-Ornithin wird über die Enzyme SpeC und SpeF zu Putrescin umgewandelt, wobei SpeF ein induzierbares Enzym ist, das beispielsweise bei niedrigem pH-Wert verstärkt exprimiert wird. In einer quantitativen Analyse zeigte sich zudem eine Tendenz zur Zunahme von Putrescin und einer Abnahme von Spermidin während der Biofilmbildung unter dem Einfluss von *Drosera* Extrakt im Vergleich zur Wachstumskontrolle (**Publikation C**). Diese Veränderungen könnten auf eine regulatorische Anpassung des Polyaminstoffwechsels hindeuten, die unabhängig vom Eisenhaushalt die Biofilmbildung beeinflussen kann.

Polyamine wie Spermidin und Putrescin sind unter anderem für die Biofilmbildung wichtig, da sie die Stabilität der extrazellulären Matrix von Biofilmen^{[150], [151]}. Außerdem wirken als Mediatoren, die die Wechselwirkungen zwischen Eisen und funktionellen Metaboliten steuern. Dies trägt zur strukturellen und funktionellen Organisation von Biofilmen bei^[145]. Eine Studie zeigt, dass Spermidin die Biofilmbildung von *E. coli* K-12 fördert, während andere Polyamine wie Putrescin und Cadaverin diesen Prozess nicht unterstützen^[151]. Entscheidend ist dabei nicht nur die intrazelluläre Konzentration von Spermidin, sondern auch dessen Aufnahme und Regulation. Hohe intrazelluläre Spermidinkonzentrationen fördern die Biofilmbildung, während eine Überakkumulation toxisch wirkt, die durch SpeG (Spermidin-N-Acetyltransferase) reduziert werden. Gleichzeitig zeigen die Ergebnisse, dass *E. coli* alternative Importmechanismen für Spermidin besitzt, darunter PotFGHI, wenn PotABCD fehlt^[151]. Dabei scheint PotD, eine periplasmatische Bindungskomponente des PotABCD-Transporters, wichtig in der Biofilmbildung von *E. coli* K-12 zu sein. Obwohl PotD primär für die Spermidinaufnahme verantwortlich ist, beeinflusst seine Deletion die Biofilmbildung unabhängig von der intrazellulären Spermidinkonzentration. Dies deutet darauf hin, dass PotD neben seiner Transportfunktion eine regulatorische Rolle besitzt, die möglicherweise mit der Kontrolle der Biofilmspezifischen Genexpression verbunden ist^{[152], [153]}. PotD könnte ein vielversprechendes Ziel für die Entwicklung von biofilmhemmenden Therapeutika sein, insbesondere da es in menschlichen Zellen kein Äquivalent gibt^[154].

Die Proteom-Analyse ergab jedoch keine signifikante Veränderung der PotD-Abundanz unter der Behandlung mit *Droserae herba*. Neben PotD ist auch PotF am Polyamin-Transport beteiligt, da es Teil des ATP-abhängigen Putrescin-Aufnahmesystems (PotFGHI) ist.

Die funktionelle Zugehörigkeit von YdcS hingegen ist nicht eindeutig geklärt. Laut der InterPro-Datenbank (EBI, 2025)^[155] katalysiert das Protein YdcS (UniProt ID P76108) die Bildung kurzer Polymere von R-3-Hydroxybutyrat (cPHB) und ist Teil des ABC-Transporter-Komplexes YdcSTUV. Außerdem wird angegeben, dass das Protein Teil der Proteinfamilie Spermidine/putrescine-binding periplasmic protein (IPR001188) ist, wozu auch PotF und PotD zählen. Um Sequenzähnlichkeiten (NCBI Protein BLAST), konservierte Domänen und funktionelle Ähnlichkeiten (NCBI Conserved Domain Database, CDD-Scan) zu identifizieren wurden, mittels bioinformatischer Analysen die Proteinsequenz von YdcS mit der von PotD verglichen (unveröffentlichte Daten). Die Proteine zeigen eine moderate Sequenzähnlichkeit (25 % Identität, 40 % ähnliche Reste), was darauf hindeutet, dass sie eine verwandte, aber nicht identische Struktur haben könnten (Tabelle 2).

Tabelle 2. Ergebnisse der BLAST-Analyse der Proteinsequenzen von PotD und YdcS. Die Werte beinhalten den Bit-Score, den E-Wert, die Anzahl der Identitäten, die positiven Übereinstimmungen und die Gaps im Alignment.

Parameter	Wert	Bedeutung
Bit-Score	59,3 bits (142)	Maß für die Alignment-Qualität; gibt an, wie gut zwei Sequenzen übereinstimmen; höhere Werte deuten auf eine größere Sequenzähnlichkeit hin; für ein mittellanges Protein (ca. 200 - 500 Aminosäuren) wird ein Bit-Score von 50 im Allgemeinen als signifikant bezeichnet ^[156]
E-Wert	$3e^{-14}$	Erwartungswert, der angibt, wie wahrscheinlich es ist, ein bestimmtes Alignment zufällig zu finden; im Allgemeinen gilt ein E-Wert von $\leq 1e^{-5}$ als signifikant ^[157]
Identities	84/332 (25 %)	Prozentualer Anteil identischer Aminosäuren im Alignment
Positive Matches	136/332 (40 %)	Anteil der Positionen mit identischen oder chemisch ähnlichen Aminosäuren
Gaps	55/332 (16 %)	Anteil der Lücken (Insertionen/Deletionen) im Alignment

Die Conserved Domain Analysis zeigte zudem, dass beide Proteine funktionell verwandt sind (Tabelle 3). Beide Proteine gehören zur gleichen Superfamilie (cl21456), was darauf hindeuten kann, dass sie eine ähnliche Funktion im Polyamin-Transport haben. Der E-Wert des Vergleichs der Polyamin-bindenden Domäne beider Proteine ($5.48e^{-138}$) zeigt eine extrem signifikante Übereinstimmung. YdcS ist möglicherweise eine Variante von PotD, mit einer ähnlichen, aber nicht identischen Funktion. YdcS könnte eine alternative Bindungsdomäne für andere Polyamine haben oder eine regulatorische Funktion besitzen.

Tabelle 3. Ergebnisse der Conserved Domain Analysis, einschließlich der identifizierten Domäne, des zugehörigen Clusters sowie E-Wert und Bit-Score.

Parameter	Wert für PotD	Wert für YdcS	Bedeutung
Gefundene Domäne	PotD	PBP2_polyamine_1	Identifizierte konservierte Proteindomäne gemäß der NCBI Conserved Domain Database (CDD)
Cluster	cl21456	cl21456	Zuordnung zu einem spezifischen funktionellen Cluster innerhalb der CDD, was auf eine evolutionäre Verwandtschaft und ähnliche Funktion hindeutet; cl21456: Periplasmic_Binding_Protein_Type_2 Superfamily
E-Wert	0	$5,49e^{-138}$	erwartete Anzahl zufälliger Treffer bei der Datenbanksuche, wobei ein E-Wert von 0,01 für seltene und Werte ab 1 für mögliche falsch-positive Ergebnisse gelten ^[158]
Bit-Score	745,6	394,4	Maß für die Qualität der Domänenübereinstimmung; ein Bit-Score von 50 gilt im Allgemeinen als signifikant für ein mittellanges Protein (ca. 200 - 500 Aminosäuren) ^[156]

Bei der Proteom-Analyse konnte eine Veränderung der Abundanz von YdcS jedoch nicht bei PotD festgestellt werden. Es erscheint möglich, dass bei dem *E. coli* ST131 im Gegensatz zu *E. coli* K-12 andere Signalmoleküle oder regulatorische Netzwerke die Expression von YdcS beeinflussen, während PotD nicht über dieselben Signalkaskaden reguliert wird. Fraglich ist, ob der Einfluss des Pflanzenextrakts auf die Abundanz periplasmatischer Polyamin-Transporter durch direkte Bindung an YdcS vermittelt wurde. Die Bindung eines Moleküls an ein Protein kann dessen Stabilität gegenüber proteolytischem Abbau verändern^[159], was die nachfolgende Detektion mittels Massenspektrometrie beeinträchtigen und zu einer verringerten Signalintensität führen kann. Erste *in silico* Docking-Studien ergaben jedoch keinen Hinweis auf potenzielle Bindungsstellen. Alternativ könnte die verringerte Häufigkeit auf einen metabolischen Effekt zurückzuführen sein.

Obwohl derzeit keine spezifischen Wirkstoffe zur gezielten Modulation des Polyaminstoffwechsels in *E. coli* zugelassen sind, existieren Medikamente, die den Polyaminstoffwechsel in anderen Organismen beeinflussen. Ein Beispiel ist Eflornithin, ein Inhibitor der Ornithin-Decarboxylase, der zur Behandlung der Schlafkrankheit (afrikanische Trypanosomiasis) eingesetzt wird. Eflornithin hemmt die Polyaminsynthese in den Parasiten und führt so zu deren Absterben^{[160], [161]}. Dieses Beispiel zeigt, dass eine gezielte Intervention im Polyaminstoffwechsel Potenzial für therapeutische Anwendungen bietet. Um den potenziellen Einfluss auf den Polyamin- sowie Eisenstoffwechsel zu verdeutlichen, wurde eine schematische Darstellung erstellt, die die wesentlichen Wechselwirkungen zusammenfasst (Abbildung 2).

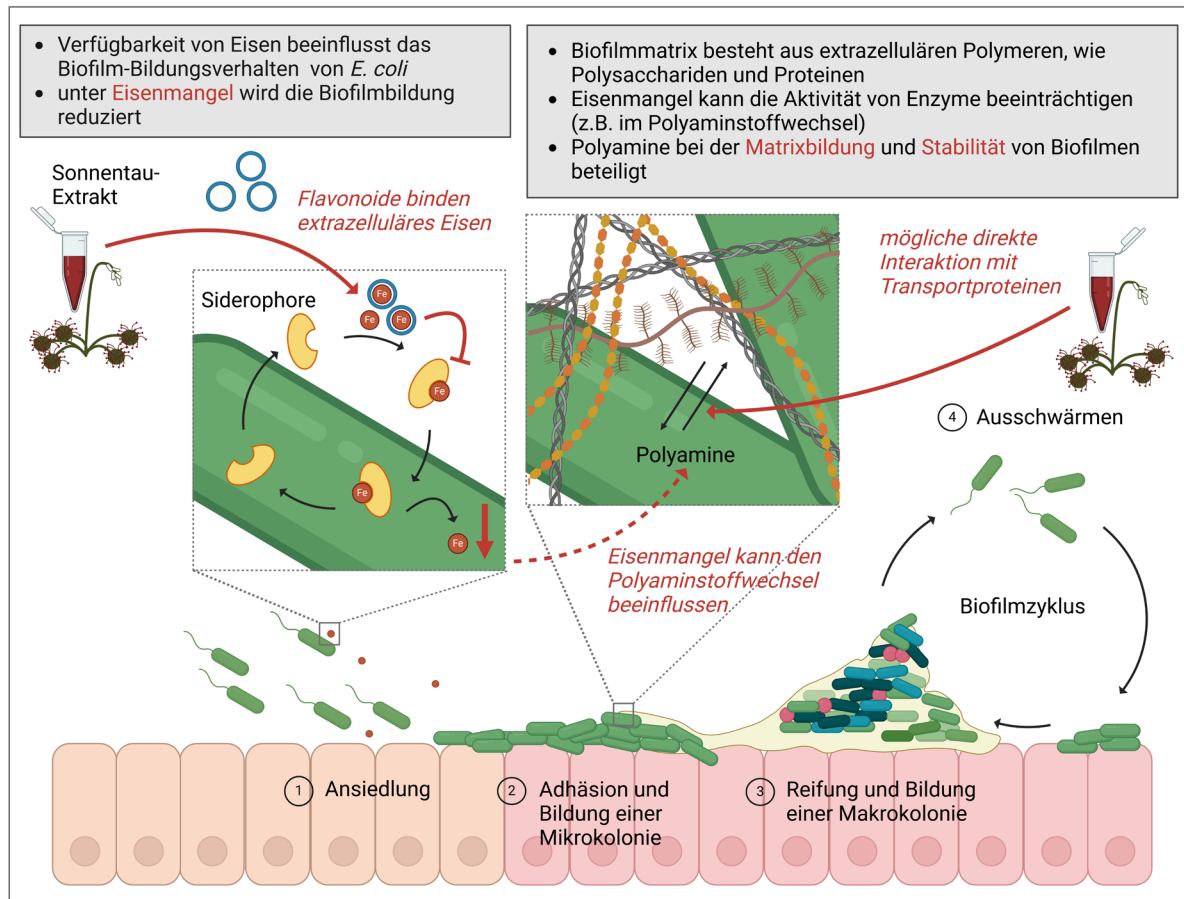


Abbildung 2. Schematische Darstellung der möglichen Wirkmechanismen eines *Drosera rotundifolia* Extrakts auf die Biofilmbildung von *E. coli* mit Schwerpunkt auf Eisenaufnahme und Polyaminstoffwechsel; erstellt mit Biorender.com.

Trotz der Ergebnisse zur Rolle von Eisen und Polyaminen für die Biofilmbildung zeigen die bestehenden Daten Einschränkungen. Diese betreffen vor allem die Komplexität der Bakterienreaktionen auf pflanzliche Extrakte und die zeitlichen sowie umgebungsbedingten Variationen, die in *in vitro* oft nicht vollständig abgebildet werden können. Angesichts dieser Herausforderungen ist es entscheidend, auch die dynamischen Wechselwirkungen innerhalb des gesamten Infektionsprozesses und die Anpassungsmechanismen der Bakterien zu berücksichtigen. Proteomics- und Metabolomics-Studien können nicht den komplexen Infektionsprozess in einem Organismus widerspiegeln. Ein weiterer Aspekt, der die Interpretation der Ergebnisse erschwert, liegt möglicherweise in der zeitlichen Dynamik der untersuchten Effekte. Die Proteom-Analyse erfolgte nach einer Inkubationszeit von 48 Stunden, bei der Metabolom-Analyse nach 24 sowie 48 Stunden. Zentrale Masterregulatoren der Biofilmbildung, wie *csgD*, wurden möglicherweise bereits zu einem früheren Zeitpunkt exprimiert, eine Veränderung in ihrer Abundanz ließ sich jedoch nicht nachweisen. Zudem könnten Gegenregulationsmechanismen aktiv gewesen sein, die die anfänglichen Effekte der Flavonoide und Naphthochinone abgeschwächt oder maskiert haben. Bakterien wie *E. coli* verfügen über komplexe Strategien, um auf Stressfaktoren wie Eisenmangel oder oxidativen Stress zu reagieren^[162].

Alternative Therapieansätze, insbesondere die Anwendung von biofilmhemmenden Naturstoffen, können von Relevanz sein, wenn herkömmliche antimikrobielle Ansätze an ihre Grenzen stoßen. Ein vielversprechendes Indikationsgebiet ist hierbei die Zystitis, eine häufig auftretende entzündliche Erkrankung der Harnblase, die oft mit der Bildung von Biofilmen durch pathogene Bakterien, insbesondere *E. coli*, in Verbindung steht^{[163], [164], [165]}. Die herkömmliche Behandlung von Zystitis erfolgt primär mit Antibiotika, wobei die Bildung von Biofilmen eine Ursache für die rezidivierende Infektion ist und zur Entwicklung von Multiresistenzen beiträgt^{[166], [167]}. Hier besitzen Phytotherapeutika in der Selbstmedikation von akuten unkomplizierten Harnwegsinfekten ein großes Potential^[168]. Dies zeigt der Umsatz von 51 Millionen Euro, der in Apotheken bei urologischen Phytotherapeutika in Deutschland im Jahr 2023 erzielt wurde. Damit zählte die Behandlung von Harnwegsinfektion zu den Top 10 der Indikationsgebiete von Phytopharmaka auf dem deutschen Apothekenmarkt im Jahr 2023^[169]. Bereits etablierte Phytopharmaka wie der Cranberry-Extrakt wirken primär durch die Reduktion der Adhäsion von *E. coli* an Uroepithelzellen^{[170], [171], [172]}. Diese Eigenschaft wird auf mikrobielle Stoffwechselprodukte der enthaltenen Proanthocyanidine zurückgeführt, die die Bildung von Pilus-Protein-Bindungen an Zellrezeptoren verhindern^[173]. Dies reduziert das Risiko einer Infektion. Weitere pflanzliche Präparate wie Bärentraubenblätter zeigen antibakterielle Effekte, die auf den Wirkstoff Arbutin zurückzuführen sind, welcher durch die Darmflora zu Hydrochinon metabolisiert und in den Harnwegen desinfizierend wirkt^{[174], [175]}. *D. rotundifolia* bietet über die genannten Mechanismen hinaus Vorteile. Anders als Cranberry-Extrakte wirkt *D. rotundifolia* direkt biofilm-inhibierend, indem es die Bildung von Curli und Cellulose, zwei wesentliche Bestandteile der Biofilmmatrix, hemmt. Somit ist die Anwendung von *Droserae herba* vor allem bei der Behandlung von wiederkehrenden Harnwegsinfektionen vielversprechend. Wiederkehrende Harnwegsinfektionen sind ein erhebliches globales Gesundheitsproblem. Jede zweite Frau erkrankt mindestens einmal in ihrem Leben an einer Harnwegsinfektion^[176]. Studien zufolge leiden bis zu 30 % der Frauen, die eine erste Harnwegsinfektion durchgemacht haben, innerhalb von sechs Monaten an einer erneuten Infektion^[177]. Bei Frauen mit einer komplizierten Krankengeschichte kann diese Rate auf 50 % steigen^[178]. *Droserae herba* Extrakte zeigen neben ihrer biofilmhemmenden Wirkung auch durch die Naphthochinone direkte antibakterielle Eigenschaften. Diese Substanzen können die Wirksamkeit von Antibiotika erhöhen und möglicherweise zu einer Reduktion der erforderlichen Dosis führen oder den Bedarf an Antibiotika verringern^[179]. Damit könnte *Droserae herba* die therapeutischen Effekte der antibakteriellen Wirkung von Bärentraubenblättern und die biofilmhemmenden Effekte von Cranberry vereinen. Zusätzlich weist *D. rotundifolia* antiinflammatorische Effekte auf, die den Heilungsprozess fördern und Beschwerden wie Schmerzen und Reizungen lindern können. Dennoch bleibt die Frage offen, wie sich die Metabolisierung der Flavonoide und Naphthochinone auf ihre Effektivität in der Blase auswirkt, da nicht bekannt ist, welche Anteile der Substanzen dort in ausreichender Konzentration verfügbar sind. Flavonoide werden im Dünndarm zu Aglykonen hydrolysiert und enzymatisch in Glucuronid-, Sulfat- oder methylierte Metaboliten umgewandelt.

Nicht absorbierte Flavonoide gelangen in den Dickdarm, wo sie von Mikroben zu phenolischen Verbindungen abgebaut, resorbiert und über Urin ausgeschieden werden^[180].

Die geringe orale Bioverfügbarkeit von Flavonoiden in ihrer unveränderten Form kann Einfluss auf ihre mögliche Aktivität in der Blase und ihre Eignung zur Behandlung von Harnwegsinfektionen haben. Auch wenn gezeigt wurde, dass Flavonoid-Glucuronide ihre biologischen Aktivitäten wie die Hemmung von Entzündungsprozessen oder die Bekämpfung von oxidativem Stress beibehalten können^[181]. Das Naphthochinon Plumbagin weist eine geringe orale Bioverfügbarkeit (ca. 39 %) im Blutplasma von männlichen Sprague-Dawley-Ratten nach oraler und intravenöser Gabe auf, bedingt durch seine niedrige Wasserlöslichkeit und hohe Lipophilie^{[182], [183]}. Nach Verabreichung an Ratten war Plumbagin bis zu 24 Stunden nicht im Blut nachweisbar. Innerhalb von 4 Stunden erschien es im Urin, wobei der Großteil innerhalb von 24 Stunden ausgeschieden wurde. Nach 48 Stunden waren noch Spuren nachweisbar^[184]. Obwohl keine direkten Beweise für die spezifische Glucuronidierung oder Sulfatierung von Plumbagin in der Leber vorliegen, könnte die geringe Halbwertszeit darauf hindeuten, dass Plumbagin wahrscheinlich beide Prozesse durchläuft, was die Bioverfügbarkeit und pharmakologischen Wirkungen beeinflussen kann. Die Wahl der Darreichungsform kann die Regulierung der Verteilung und Metabolisierung der Naphthochinone und Flavonoide optimieren. Zudem müssen potenzielle Wechselwirkungen mit Arzneimitteln berücksichtigt werden. Ein bekanntes Beispiel für derartige Wechselwirkungen ist die durch Flavonoide im Grapefruitsaft vermittelte Hemmung des CYP3A4-Enzyms^[185]. Ähnlich dazu zeigt Plumbagin eine hemmende Wirkung auf mehrere CYP-Enzyme, darunter CYP1A2, CYP2B6 und CYP3A4^[186]. Da diese Enzyme eine zentrale Rolle im Metabolismus zahlreicher Arzneistoffe spielen, kann ihre Hemmung die Pharmakokinetik, insbesondere Metabolisierung und Elimination, klinisch relevant beeinflussen.

3. Zusammenfassung und Ausblick

Die vorliegende Dissertation untersucht das Potenzial der traditionellen Arzneipflanze *D. rotundifolia* als modernes Phytopharmakon. Ziel ist es, durch die Erarbeitung von Qualitätsparametern, Wirksamkeitsnachweisen und toxikologischen Untersuchungen Grundlagen für einen Übergang von der traditionellen Nutzung hin zu einer wissenschaftlich fundierten modernen Phytotherapie zu ermöglichen. Ein zentraler Bestandteil der Arbeit war die Entwicklung von Prüfmethode und Qualitätskriterien für *Droserae herba*, die an den Monographien des Ph. Eur. orientiert sind. In Anbetracht der aktuell fehlenden spezifischen Arzneibuchmonographie wurden Verfahren zur standardisierten Qualitätskontrolle entwickelt, die der Sicherstellung einer konstanten Qualität in Bezug zur Identität, Reinheit und Gehalt von *Droserae herba* dienen. Ein weiterer Teil der Arbeit war die Untersuchung der antimikrobiellen Wirkung. Neben der Testung gegen Hefen, Gram-positiven und Gram-negativen Erregern lag der Fokus auf der biofilmhemmenden Wirkung von Sonnentauextrakten gegenüber multiresistenten, biofilmbildenden *E. coli*-Stämmen. Biofilme stellen ein zentrales Problem bei der Behandlung chronischer Infektionen dar, da sie die Bakterien vor Antibiotika schützen. Die Ergebnisse zeigten, dass *Droserae herba* Extrakte die Fähigkeit von *E. coli*, Biofilme zu bilden, konzentrationsabhängig hemmen. Durch bioaktivitätsgeführte Fraktionierung konnte zudem gezeigt werden, dass vor allem die Flavonoide für die biofilmhemmende Wirkung entscheidend sind. Proteom- und Metabolom-Analysen lieferten Einblicke in die molekularen Mechanismen, die den biofilmhemmenden Effekten zugrunde liegen. Es zeigte sich, dass *Droserae herba* Extrakte in der Lage sind, den Eisen- und Polyamin-Haushalt von *E. coli* zu beeinflussen, was vermutlich eine destabilisierende Wirkung auf die Ausbildung einer Biofilmmatrix hat. Zytotoxizitätsuntersuchungen der Extrakte, Fraktionen und Einzelbestandteile sprechen für eine sichere Anwendung von Sonnentau-Präparaten. Diese toxikologischen Bewertungen sind ein wichtiger Schritt, um die therapeutische Anwendbarkeit von *D. rotundifolia* in klinischen Studien zu testen. Insgesamt wurde mit dieser Dissertation eine Grundlage geschaffen, die nicht nur die Qualitätsstandards für *Droserae herba* festlegt, sondern auch die biofilmhemmende Wirkung als einen vielversprechenden Ansatz für die Behandlung von Infektionen mit multiresistenten Bakterien etabliert. Die gewonnenen Erkenntnisse sichern qualitativ hochwertige *Drosera*-Präparate, erweitern das therapeutische Profil von *D. rotundifolia* und stellen somit einen wichtigen Beitrag zur modernen Phytotherapie dar. Um die entwickelten Methoden zur Qualitätskontrolle in eine Monographie des Ph. Eur. zu überführen, sind weitere Schritte erforderlich. Diese umfassen insbesondere die Validierung und Standardisierung der Prüfmethode. Die Methoden müssen valide und robust gegenüber verschiedenen Bedingungen sein, wie der Verwendung unterschiedlicher Geräte und Umgebungsbedingungen, um ihre langfristige Anwendbarkeit in verschiedenen Laboren zu gewährleisten. Zudem ist eine Erweiterung der Stichprobenzahl notwendig, um die Repräsentativität und Zuverlässigkeit der Ergebnisse zu erhöhen. Eine größere Stichprobenzahl ermöglicht es, potenzielle Variationen in der Qualität der Pflanze unter verschiedenen Standorten und über unterschiedliche Erntezeitpunkte hinweg besser zu erfassen.

Auch eine Erweiterung der Monographie auf weitere Arten, wie zum Beispiel *D. anglica*, erscheint vorstellbar. Dies trägt dazu bei, die Methoden auf verschiedene Gegebenheiten anzupassen, um so eine konsistente Qualität des Endprodukts sicherzustellen. Ein weiterer wichtiger Aspekt in der Qualitätskontrolle von *Droserae herba* ist die Überwachung von Pestizidrückständen. Oft wird in Monographien auf eine allgemeine Vorschrift für Grenzwerte von Pestiziden verwiesen. Moorflächen und Torfmoosgebiete können durch den Einsatz von Pestiziden in benachbarten landwirtschaftlichen Flächen mit Pestizidrückständen kontaminiert werden. Untersuchungen zu Pestizidrückständen in Moorflächen haben jedoch gezeigt, dass Mooregebiete als Puffer wirken, indem sie Schadstoffe wie Pestizide filtern und binden, anstatt diese sofort an Gewässer oder in die Luft abzugeben^[187]. Dies bedeutet jedoch nicht, dass Pestizide vollständig abgebaut werden. Vor diesem Hintergrund könnte diskutiert werden, ob die Monographie von *Drosera herba* um einen spezifischen Grenzwert für Pestizide ergänzt werden sollte, um den besonderen Bedingungen von Torfmoosflächen gerecht zu werden. Darüber hinaus müssen auch weitere Verunreinigungen berücksichtigt werden, wie Metalle, mikrobielle Stoffe, Mykotoxine, Pestizide und Lösungsmittelrückstände. Eine Studie, die Daten aus 28 verschiedenen Ländern auf vier Kontinenten untersuchte, zeigte, dass Metalle, mikrobielle Stoffe und Mykotoxine die häufigsten Schadstoffe in pflanzlichen Arzneimitteln sind^[188]. Diese Ergebnisse unterstreichen die Notwendigkeit einer erweiterten Qualitätskontrolle, die alle potenziellen Verunreinigungen berücksichtigt. Neben den Qualitätsparametern stellt auch die Nachhaltigkeit der Produktion von *D. rotundifolia* ein zusätzliches Problem dar. Es konnte bereits in Studien gezeigt werden, dass der nachhaltige Anbau von *Drosera* auf Torfmoosflächen grundsätzlich möglich ist^[189]. Jedoch kann sich die Ernte aufgrund des besonderen Untergrundes als herausfordernd gestalten. Die Entwicklung spezieller Erntemaschinen oder angepasster Anbauverfahren könnte dazu beitragen, die Ernte sowohl ökologisch als auch ökonomisch effizienter zu gestalten. Neben der Sicherstellung der Qualität ist die Wirksamkeit von *Droserae herba* ein weiterer entscheidender Aspekt für ihre potenzielle Anwendung als Phytopharmakon.

In den Wirksamkeitsuntersuchungen konnten sowohl klassische als auch neue Effekte der Pflanze nachgewiesen werden. Traditionell wurden insbesondere die antiinflammatorische Wirkung durch Flavonoide und die antibakterielle Wirkung, vor allem durch Naphthochinone, als zentrale therapeutische Eigenschaften identifiziert. Die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen haben jedoch auch eine vielversprechende Biofilmmhemmung gezeigt, was das therapeutische Potenzial von *Droserae herba* erweitern kann. Eine präzisere Erfassung der genauen molekularen Ziele und Wechselwirkungen von Flavonoiden, Naphthochinonen und anderen bioaktiven Komponenten wird dazu beitragen, das therapeutische Potenzial weiter zu erschließen. Beispielsweise könnte mittels Kalorimetrie (ITC – Isothermal Titration Calorimetry) die Messung von Bindungsaffinitäten und thermodynamischen Parametern zwischen den bioaktiven Substanzen und potenziellen Zielmolekülen Aufschluss über die Stärke und Spezifität der Wechselwirkungen analysiert werden.

Eine weitere Möglichkeit wäre die gezielte Ausschaltung von Genen mittels CRISPR/Cas-Technologie, da klassische Knockout-Studien bei multiresistenten Stämmen aufgrund von Resistenzmechanismen und geringer Transformierbarkeit nur eingeschränkt möglich sind.

Das biofilmbildende Verhalten von *E. coli* ST131 und die Rolle von Eisen und Polyaminen in der Biofilmbildung sollten weiter beleuchtet werden, um gezielte therapeutische Interventionen zu entwickeln. Darüber hinaus sind Studien erforderlich, die das Zusammenspiel der bioaktiven Komponenten im gesamten Infektionsprozess besser nachvollziehen und synergistische Effekte in der Bekämpfung von multiresistenten *E. coli*-Stämmen untersuchen. Um synergistische Effekte zu quantifizieren, könnten Kombinationen der bioaktiven Substanzen von *Droserae herba* mit Antibiotika in Checkerboard-Assays untersucht werden. Es gilt, die Effektivität von *D. rotundifolia* in Kombination mit gängigen Antibiotika zu testen und mögliche synergistische Effekte zu identifizieren, die zu einer Verbesserung der Wirksamkeit der bestehenden Therapieansätze führen könnten. Auch sollte die Untersuchung der Bioverfügbarkeit und die Entwicklung einer optimalen Darreichungsform adressiert werden. Innovative Darreichungsformen, wie nanopartikuläre Arzneimittelabgabesysteme^[190] oder Tabletten mit verlängerter Freisetzung, können die Bioverfügbarkeit optimieren. Erstere ermöglichen eine gezielte Freisetzung mit verlängerter Wirkstoffverweildauer an der Blase, während Letztere eine kontrollierte Abgabe und verbesserte Bioverfügbarkeit der aktiven Substanzen unterstützen.

Der Einsatz eines Mausmodells ermöglicht die Erfassung pharmakokinetischer Eigenschaften und *in vivo* Effekte und schafft eine fundierte Basis für klinische Studien zur Evaluierung der Sicherheit und Wirksamkeit von *Droserae herba*. Auf dieser Grundlage können umfangreiche klinische Untersuchungen erfolgen, die neben der Wirksamkeit und Sicherheit von *Droserae herba* auch potenzielle Wechselwirkungen mit anderen Arzneimitteln sowie Auswirkungen auf den Eisenstoffwechsel berücksichtigen.

Zusammenfassend sollten die nächsten Forschungsschritte die Validierung der Methoden zur Qualitätskontrolle, die vertiefte Aufklärung der Wirkmechanismen sowie weiterführende toxikologische Untersuchungen umfassen. Anschließend sind Phase-I-Studien erforderlich, um Sicherheit, Verträglichkeit und Pharmakokinetik von *Droserae herba* zu bewerten, gefolgt von Phase-II-Studien zur Untersuchung der therapeutischen Wirksamkeit bei spezifischen Indikationen. Diese Schritte sind essenziell, um *Droserae herba* als traditionelle Arzneipflanze in der modernen Phytotherapie zu etablieren.